ENCYCLOPÉDIE CHIMIQUE

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

M. FREMY

Membre de l'Institut, professeur à l'École polytechnique, directeur du Muséum
Membre du Conseil supérieur de l'instruction publique

PAR UNE RÉUNION

D'ANCIENS ÉLÈVES DE L'ÉCOLE POLYTECHNIQUE, DE PROFESSEURS ET D'INDUSTRIELS

ET NOTAMMENT DE

MM. ARSON et AUDOUIN, ing. en chef des travaux chim. à la Compagnie parisienne du gaz
H. BECQUEREL, répétiteur à l'École polytechnique; BERTHELOT, sénateur, membre de l'Institut
BOUILHET, ing. dir. de la maison Christofle; M. BOURGEOIS, répétiteur à l'École polytechnique
BOURGOIN, professeur à l'École de pharm.; BOUTAN, ingénieur des Mines
BRESSON, ancien directeur des mines et usines de la Société autrichienne des chemins de fer de l'État
CAMUS, directeur de la Compagnie du gaz; AD. CARNOT, directeur des études de l'École des mines;
CHASTAING, pharm. en chef de la Pitié; CLÈVE, profess. à l'Université d'Upsal; CUMENGE, ingén. en chef des mines
CURIE (J.), maître de conférences à la Faculté des sciences de Montpellier; DEBIZE, ingénieur en chef des manuf. de l'État
DEBRAY, membre de l'Institut; DECAUX, directeur des teintures des manuf. de l'État
DEHÉRAIN, membre de l'Institut, professeur au Muséum
DITTE, professeur à la Faculté des sciences de Caen; DUBREUIL, président de la chambre de commerce à Limoges
DUCLAUX prof. à l'Instit. agronom.; DUPRÉ, s.-dir. du labor. municipal; DUQUESNAY, ing. des manuf. de l'État
EUVERTE, directeur des forges de Terre-Noire; DE FORCRAND, docteur ès sciences; FUCHS, ing. en chef des Mines
GARNIER, professeur à la Faculté de médecine de Nancy
GAUDIN, ancien élève de l'École polytechnique, prof. de chimie; GIRARD, directeur du laboratoire municipal
L. GODEFROY, professeur à l'École libre des hautes-études; L. GRUNER, inspecteur général des mines
Ch.-Er. GUIGNET, ancien élève et répétiteur à l'École polytechnique, professeur de chimie
GUNTZ, maître de confer. à la Fac. des sciences de Nancy; HENRIVAUX, direc. de la manufact. des glaces de Saint-Gobain
JOANNIS, maître de conférences à la Faculté des sciences de Bordeaux; JOLY, maître de conférences à la Sorbonne
JOULIE, pharmacien en chef de l'hospice Dubois; JUNGFLEISCH, professeur à l'École de pharmacie
KOLB, administrateur de la Société des manufactures des produits chimiques du Nord
LEIDIÉ, pharm. en chef de l'hôpital Necker; LEMOINE, ing. en ch. des ponts et chaussées, examin. à l'École polytechnique
LODIN, ing. des mines; MALLARD, prof. à l'École des mines; MARGOTTET, prof. à la Faculté des sciences de Dijon
MARGUERITTE, président du conseil d'admin. de la compagnie paris. du gaz
MATHEY, dir. des houillères de Blanzy; MEUNIER (STANISLAS), aide-natur. au Muséum; MOISSAN, agrégé à l'Éc. de pharm.
MOUTIER, examinateur de sortie à l'École polytechnique
MUNTZ, professeur, directeur des laboratoires à l'Institut agronomique; NIVOIT, profess. à l'École des ponts et chaussées
ODENT, anc. élève de l'École polytechnique; OGIER, dir. du laboratoire de toxicologie à la préfecture de police
PABST, chimiste principal au laboratoire municipal; PARMENTIER, profes. à la Faculté des sciences de Montpellier
PÉCHINEY, directeur des usines de produits chim. du midi; PERSOZ fils, directeur de la condition des soies
POMMIER, industriel; PORTES, pharm. en chef de l'hôpital de Lourcine; PRUNIER, prof. à l'École de pharmacie
RIBAN, directeur du laboratoire de la Sorbonne; ROSWAG, ingénieur civil des Mines
ROUSSEAU, s.-dir. du laboratoire de chimie de la Sorbonne; SABATIER, prof. à la Faculté des sciences de Toulouse
SARRAU, professeur à l'École polytechnique; SCHLAGDENHAUFFEN, dir. de l'École de pharmacie de Nancy
SCHLŒSING, prof. au Conservatoire des arts et métiers; SOREL, anc. ingén. des manuf. de l'État
TERREIL, aide-naturaliste au Muséum; TERQUEM, professeur à la Faculté de Lille
URBAIN, répétiteur à l'École centrale des arts et manufactures; VERNEUIL, professeur de chimie
VIEILLE, ing. des poudres et salpêtres; VILLIERS, agrégé à l'École de pharm.; VINCENT, prof. à l'École centrale
VIOLLE, prof. à la Faculté des sciences de Lyon; WELDON, membre de la Société royale de Londres, etc.

TOME IX. — APPLICATIONS DE CHIMIE ORGANIQUE

2e SECTION (2e *fascicule*)

CHIMIE PHYSIOLOGIQUE

PREMIÈRE PARTIE

ANALYSE CHIMIQUE DES LIQUIDES ET DES TISSUS DE L'ORGANISME

Par les Drs GARNIER
Professeur à la Faculté de médecine de Nancy
et SCHLAGDENHAUFFEN
Directeur à l'École supérieure de pharmacie de la même ville

PARIS
Vve CH. DUNOD, ÉDITEUR
LIBRAIRE DES CORPS DES PONTS ET CHAUSSÉES, DES CHEMINS DE FER, DES MINES ET DES TÉLÉGRAPHES
49, Quai des Augustins, 49
1888

TRAITÉ
D'ANALYSE CHIMIQUE
DES LIQUIDES ET DES TISSUS
DE L'ORGANISME

PAR

MM. GARNIER & SCHLAGDENHAUFFEN

INTRODUCTION

Les progrès de la technique analytique, et les découvertes de la chimie générale touchant la structure moléculaire des corps et la synthèse méthodique des composés organiques, ont exercé durant ces vingt dernières années une influence considérable sur le développement de la chimie biologique. D'autre part, un certain nombre de découvertes, d'un intérêt physiologique saisissant, ont heureusement ramené vers la chimie biologique l'attention du monde médical. L'étude si curieuse des alcaloïdes physiologiques, ces ressemblances si subitement révélées entre les transformations chimiques qui accompagnent la vie intime de nos cellules et les dédoublements opérés par les micro-organismes dont nous suivons dans nos cultures le travail chimique si varié et si intense; tout cet ensemble de recherches et d'idées qui, chaque jour, accentuent l'évolution des sciences médicales vers les sciences physico-chimiques, ont enfin rendu à la chimie biologique la place importante qui doit lui revenir en médecine.

Ce développement considérable de la chimie biologique marquait d'avance la place que l'exposé de cette branche de nos connaissances

devait prendre nécessairement dans l'importante publication dirigée par M. Fremy. — En raison même de cette ampleur de notre tâche, il nous a semblé nécessaire de diviser notre travail en deux parties bien distinctes :

La première ne sera autre chose qu'un traité d'analyse appliqué à la chimie biologique. La seconde, ainsi allégée des descriptions d'appareils et de méthodes analytiques, pourra être consacrée entièrement à la chimie biologique proprement dite, et comprendra l'étude des tissus et des humeurs de l'économie et des mutations de matières qui s'accomplissent dans l'organisme.

C'est la première partie, la partie analytique de cet ouvrage, que nous abordons dans le présent volume. Nous nous sommes proposés d'y exposer tout ce qui, dans la technique analytique, est spécial aux recherches biologiques. Le lecteur n'y trouvera donc pas ces chapitres préliminaires sur les opérations générales de l'analyse chimique (filtration, calcination, dessiccation, etc...) que l'on a coutume, et avec raison, de placer à l'entrée des traités d'anaylse, mais que nous avons cru inutile de répéter dans ce traité spécial.

Il résulte de là que la *partie générale* de ce volume s'est trouvée restreinte à l'étude des méthodes optiques de recherches. Tous ceux qui s'occupent de chimie biologique savent quelle place importante ces méthodes ont prise dans ces dernières années, et ne seront pas surpris de l'espace considérable que nous avons cru devoir leur accorder.

La *partie spéciale* comprend l'étude méthodique des procédés d'analyse des liquides et tissus de l'organisme. Nous n'avons pas cru devoir adopter dans l'exposé de ces méthodes, l'ordre qui résulte de la subordination naturelle des diverses fonctions animales, et qui consiste à étudier d'abord la fonction de la digestion, puis le sang et les tissus, et enfin les excreta. Nous plaçant à un point de vue exclusivement pratique, nous avons étudié d'abord celle des humeurs — urines normales et pathologiques, sang, sérosités diverses, lait, etc. — qui présentent un intérêt capital pour le physiologiste et le clinicien. L'étude analytique des sécrétions du tube digestif et du contenu intestinal, puis enfin celle des divers tissus de l'organisme terminent l'ouvrage.

PREMIÈRE PARTIE.

MÉTHODES GÉNÉRALES OPTIQUES DE RECHERCHES.

CHAPITRE PREMIER.

SPECTROSCOPIE.

Depuis les mémorables recherches de Kirchhoff et Bunsen sur les spectres discontinus émis par la vapeur incandescente des métaux alcalins et alcalino-terreux, et les résultats si considérables auxquels conduisit la comparaison de ces spectres avec les lignes de Fraunhofer du spectre solaire, l'attention des chimistes n'a cessé d'être sollicitée par cette nouvelle méthode d'analyse. Ce procédé de recherche des métaux, par l'examen des *spectres d'émission*, qui reçut bientôt des applications si nombreuses et si importantes dans toutes les parties du domaine de la chimie pure et appliquée, ne présentait, on le comprend, pour le chimiste biologiste qu'un intérêt assez restreint. Même au point de vue général, après que la nouvelle méthode, créée et perfectionnée par Kirchhoff et Bunsen, eût conduit, entre les mains de ces savants et celles de leurs successeurs, à la découverte d'un certain nombre de métaux nouveaux, il sembla un instant que l'intérêt de cette méthode fût épuisé pour le chimiste.

Mais dans l'intervalle, grâce aux recherches de Brewster et de Gladstone, une branche nouvelle de l'analyse spectrale, à savoir l'étude des *spectres d'absorption*, s'était peu à peu développée. Angström, Hagenbach, Krauss, Valentin, etc., firent connaître les spectres d'absorption d'un grand nombre de substances organiques et minérales, en même temps que Sorby, Reynolds, Vogel et d'autres observateurs montraient tout le parti que l'analyse chimique pouvait tirer de ces recherches, notamment dans l'examen des aliments, des boissons, des médicaments, etc... Enfin, la chimie biologique proprement dite, appliquant à son tour cette méthode d'investigation si précieuse, s'enrichit rapidement d'un ensemble de faits nouveaux du plus haut intérêt. Grâce aux travaux de Hoppe-

Seyler, Stokes, Sorby, Valentin, Vierordt, les matières colorantes du sang, de l'urine, de la bile, etc..., les matières colorantes végétales et notamment la chlorophylle, ont pu être étudiées et suivies dans leurs multiples transformations. Ces recherches, où presque toujours l'analyse spectrale précède l'analyse chimique et lui ouvre la voie, constituent l'application la plus importante de la spectroscopie aux études biologiques. — Dans ces dernières années, l'examen optique des matières colorantes est devenu plus précis encore par l'étude *photométrique* des spectres d'absorption. Cette méthode nouvelle, dite *spectrophotométrique*, a pu être appliquée au dosage des matières colorantes. Elle a reçu entre les mains de Vierordt, de Hüfner, de Branly, de Quinquaud, etc., de nombreuses applications à l'étude qualitative et quantitative des liquides colorés de l'organisme.

C'est la technique de toutes ces applications de la spectroscopie aux sciences biologiques que l'on se propose d'exposer rapidement dans le présent chapitre. On étudiera successivement :

I. Le spectroscope;
II. Les spectres d'émission et les spectres d'absorption au point de vue *qualitatif;*
III. La spectrophotométrie et l'analyse spectrale *quantitative.*

§ I. — LE SPECTROSCOPE.

Cet appareil qui a reçu de nombreux perfectionnements, se compose essentiellement de quatre parties (voyez fig. 1) : 1° Une fente a, que l'on peut élargir ou rétrécir à volonté à l'aide d'une vis à mouvement très lent, est fixée verticalement à l'extrémité d'un tube dont l'autre extrémité *b* porte le collimateur, c'est-à-dire une lentille achromatique, au foyer de laquelle doit se trouver la fente; 2° les rayons lumineux qui ont pénétré par la fente, rendus parallèles par le collimateur, tombent sur le prisme *c* disposé sur une plate-forme et placé, par rapport à l'axe du tube a*b*, dans la position du minimum de déviation; 3° au sortir du prisme, le faisceau émergent est reçu dans une lunette astronomique *de*, à grossissement assez fort (ordinairement 6-8 fois) et parvient en *f* à l'œil de l'observateur; 4° un second collimateur *gh* porte à son extrémité *h* un micromètre tracé ou photographié sur verre; lorsque ce micromètre est éclairé, son image réfléchie par la face correspondante du prisme, se présente dans la lunette à l'œil de l'observateur qui voit à la fois les traits du

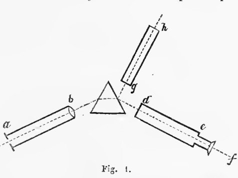


Fig. 1.

micromètre et le spectre avec les particularités qu'il peut présenter. Dans la plupart des spectroscopes, la moitié supérieure de la fente est cachée par un petit prisme à réflexion totale, qui reçoit la lumière émise par une lampe placée latéralement et la renvoie dans l'axe du tube *ab*. Cette disposition permet d'obtenir deux spectres superposés, différemment modifiés, ou provenant de deux sources différentes, et, par suite, de les comparer dans les diverses régions.

On a construit des spectroscopes munis de deux prismes ou même d'un plus grand nombre, afin d'atteindre un effet dispersif plus puissant. Cette dilatation considérable du spectre est presque toujours inutile dans les recherches de chimie biologique. Un seul prisme en flint, d'un angle d'environ 60°, répond à toutes les exigences de ce genre de recherches. Il faut même éviter, en général, les fortes dispersions produites par les prismes multiples, comme aussi l'emploi de lunettes à très forts grossissements. De tels appareils sont moins sensibles pour l'étude des spectres d'absorption des liquides colorés ou des spectres de lignes des vapeurs métalliques, et laissent l'observateur en défaut là où un spectroscope à un seul prisme muni d'une lunette à faible grossissement fournit encore des résultats très nets.

Le réglage de l'appareil se fait de la manière suivante : on enlève d'abord le prisme *c*, et l'on regarde dans le collimateur de *b* vers *a*, en donnant à la fente une largeur moyenne. En même temps, en tirant sur le tube *ab*, on approche ou on éloigne la fente jusqu'à ce que les deux bords de cette dernière soient vus très nettement. On vise, d'autre part, avec la lunette un objet éloigné et on règle le tirage de telle façon que cet objet soit vu nettement. On remet ensuite le prisme en place et, éclairant le micromètre à l'aide d'une lampe, on agit sur le tube *h* qui porte ce micromètre, jusqu'à ce que les divisions soient vues nettement dans la lunette.

Orientation dans le spectre. — Il nous reste à indiquer la manière dont on repère dans les diverses régions spectrales les particularités que l'on observe. Cette orientation dans le spectre se fait à l'aide du micromètre et la position d'une raie, par exemple, peut être indiquée soit par une division micrométrique, soit mieux par la longueur d'onde des rayons correspondant à la région spectrale modifiée.

L'échelle micrométrique pouvant être déplacée dans le champ du spectroscope, il importe de lui donner d'abord une position déterminée dans le champ, c'est-à-dire de faire coïncider une division, déterminée du micromètre avec une région spectrale connue facile à retrouver. Dans ce but, on éclaire la fente à l'aide de la lumière jaune du sodium (flamme de l'alcool salé, par exemple), et on fait tourner la lunette de telle façon que l'image de la fente, qui apparaît seule dans le champ sous forme d'une ligne jaune, soit située un peu à gauche dans ce champ. En faisant varier la largeur de la fente à l'aide de la vis, on constate que l'image de cette fente présente un bord fixe et un bord mobile. On amène alors l'image du micromètre dans le champ et l'on fait coïncider une division déterminée de l'échelle avec le bord fixe de l'image de la fente. Le collimateur et le micromètre sont ensuite fixés dans cette position. Bunsen et ses élèves amènent ordinairement la raie du sodium à la division 50 du micromètre. Si l'appareil possède un pouvoir dispersif considérable, ce qui étale davantage

le spectre, il convient de mettre la raie jaune en coïncidence avec la division 70. Certains observateurs la placent à la division 100 (Lecocq de Boisbaudran). Vogel a proposé d'adopter pour la raie du sodium la division 0, en affectant du signe + les divisions qui sont à droite du zéro, et du signe — celles qui sont à gauche.

Il faut remarquer, en outre, que les échelles micrométriques varient d'un appareil à l'autre, comme aussi le pouvoir dispersif des prismes pour les *diverses couleurs spectrales*. Il en résulte que les indications des deux appareils ne sauraient être immédiatement comparées. Il faut calculer d'abord la valeur d'une division de l'une des échelles en divisions de l'autre, et ce calcul doit être fait, non pas une seule fois pour toute l'étendue du spectre, mais successivement pour les diverses couleurs. Ainsi, soient deux spectroscopes A et B fournissant les indications suivantes :

	$K\alpha$	$Li\alpha$	Na	Tl	Sr	$K\beta$
A.	17	31,5	50	67	104	152
B	15	30,5	50	69	110	185

Il sera facile de calculer que pour la région spectrale située entre les lignes Tl et Sr, une division de l'appareil A vaut 1,108 divisions de l'appareil B, tandis que pour l'espace Sr—Kβ, une division de A vaut 1,562 divisions de B (1).

Un procédé plus scientifique consiste à fixer une fois pour toutes les valeurs en longueurs d'onde des divisions de l'instrument dont on dispose, et d'indiquer la position d'une raie par la longueur d'onde correspondante. Ainsi la raie rouge du potassium correspond à une longueur d'onde exprimée par le nombre 768, *en prenant comme unité un millionième de millimètre*. La transformation des indications micrométriques en longueurs d'onde se fait aisément en suivant le procédé publié par M. Salet (*Agenda du chimiste*). Étant donnée une feuille de papier quadrillé, on convient que chaque division horizontale, chaque millimètre, représente une division de l'échelle. Sur une ligne horizontale on fixe les positions d'un certain nombre de raies caractéristiques appartenant à des spectres connus. Ainsi la raie jaune D du sodium correspondant dans l'instrument à la division 50 du micromètre, on la marque au numéro 50 du papier quadrillé, à droite du zéro, et ainsi de suite pour les autres raies. Sur les lignes verticales aboutissant aux divisions marquées, on porte des longueurs proportionnelles aux longueurs d'onde connues de ces raies, 1 millimètre valant deux unités ou deux millionièmes de millimètre ; enfin on réunit par une courbe continue les extrémités de ces ordonnées. L'intersection de cette courbe avec les verticales placées entre deux raies consécutives fournit les longueurs d'ondes correspondantes aux divisions où aboutissent les verticales. L'approximation est d'autant plus grande que l'on aura choisi un nombre plus considérable de points de repère (Pl. I).

Voici les sources de lumière grâce auxquelles on construira la courbe avec une approximation suffisante :

(1) Voy. p. 32, le mode de notation employé par Stokes et qui est indépendant de l'appareil employé. — Consulter aussi H.-W. Vogel. *Practtische Spectralanalyse irdischer Stoffe*. Nördlingen, 1877.

COURBE DE TRANSFORMATION DES DIVISIONS DE L'ÉCHELLE DU SPECTROSCOPE EN LONGUEURS D'ONDE

0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120 130 140 150 160 170

790
770
750
730
710
690
670
650
630
610
590
570
550
530
510
490
470
450
430
410
390

0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120 130 140 150 160 170

1° Étincelle de la bobine ou de la bouteille de Leyde éclatant dans l'air entre des pôles de platine, des pôles de zinc, des pôles de zinc amalgamé, des pôles d'étain, de cuivre ;

2° Flamme colorée par les sels de soude, de thallium de potassium, de lithium (1).

Indiquons encore les limites des diverses couleurs du spectre en longueurs d'onde :

Rouge	723 – 647	Bleu	492 – 455
Orangé	647 – 585	Indigo	455 – 424
Jaune	585 – 575	Violet	424 – 397
Vert	575 – 492		

Spectroscope à vision directe. — On remplace souvent l'instrument que nous venons de décrire par le spectroscope *à vision directe*, dans lequel la lunette et le collimateur sont sur le prolongement l'un de l'autre, ce qui rend l'appareil d'un emploi plus commode. Le système de prismes est disposé de manière à disperser la lumière sans déviation sensible du rayon moyen. Ce résultat est obtenu en annulant la déviation d'un prisme en flint F par l'accolement de deux prismes en crown C dont la dispersion est beaucoup moins considérable (prisme d'Amici) (fig. 2). Il suffit de suivre la marche des rayons à travers le système de ces prismes (fig. 2) pour voir le parallélisme des rayons émergents. On obtient encore de meilleurs résultats en portant à cinq le nombre des prismes (Hoffmann) (fig. 3). Pour que les rayons incidents et émergents soient parallèles, après avoir passé par l'ensemble de ces prismes, représentés par la figure 3, il faut que tout soit symétrique par rapport au rayon du troisième prisme; par conséquent, en désignant les angles d'incidence et de réfraction par les lettres i, r, r', r'', r''', i', puis les indices de réfraction des prismes par n et m, on devra avoir :

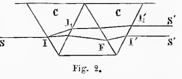


Fig. 2.

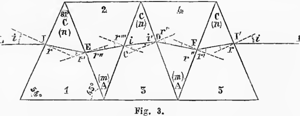


Fig. 3.

(1)	$\sin i = n \sin r$,	(4)	$r + r' = C$,
(2)	$n \sin r' = m \sin r''$,	(5)	$r'' + r''' = A$,
(3)	$m \sin r''' = n \sin i'$,	(6)	$2i' = C$.

(1) Voyez aussi : Lecocq de Boisbaudran, *Spectres lumineux*, Paris, 1876, p. 28.

Jansson emploie le même dispositif des trois prismes de crown séparés par les deux de flint. Les angles des crowns sont, comme l'indique la fig. 3, respectivement de 81°, 54° et 45°.

Le parallélisme des rayons émergents et dispersés s'obtient enfin par un seul prisme (Herschell, Browning), en le taillant sous des angles de 90°, 69°5, 20°5 et en disposant le rayon incident de manière à produire deux réflexions des rayons dispersés sur les deux faces du prisme, l'une en I, l'autre en I', comme le montre la figure 4.

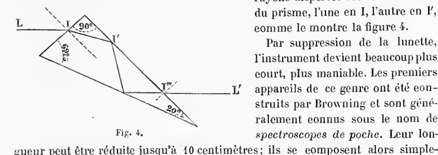


Fig. 4.

Par suppression de la lunette, l'instrument devient beaucoup plus court, plus maniable. Les premiers appareils de ce genre ont été construits par Browning et sont généralement connus sous le nom de *spectroscopes de poche*. Leur longueur peut être réduite jusqu'à 10 centimètres; ils se composent alors simplement de la fente, de la lentille du collimateur et des prismes. L'observateur regarde directement dans le prisme et voit un spectre virtuel. Il suffit pour régler l'appareil de viser la lumière des nuées et d'agir sur le tirage du tube oculaire jusqu'à ce que les lignes E et *b* du vert (qui occupe le centre du champ visuel) apparaissent nettement. Ces spectroscopes à main sont fréquemment employés dans les recherches biologiques, surtout en Allemagne. Leur mobilité permet de viser dans toutes les directions, ce qui rend leur usage bien plus commode, lorsqu'il s'agit, par exemple, d'examiner successivement les diverses parties d'un appareil un peu complexe, dans lequel on soumet des matières colorantes à l'action d'agents quelconques (1). — Le spectroscope à vision directe a été adopté aussi par M. Hénocque dans la construction de son *hématospectroscope*. La description de cet intéressant appareil peut difficilement être séparée de l'étude de ses applications, et est reportée pour cette raison au chapitre spécial relatif à l'analyse du sang.

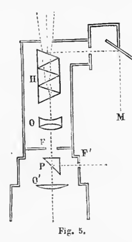


Fig. 5.

Microspectroscope. — Lorsqu'il s'agit d'étudier les spectres d'absorption de corps microscopiques, par exemple de liquides colorés imbibant des préparations histologiques, d'organes colorés chez des êtres inférieurs, on combine le spectroscope avec un microscope et de telle manière que la fente du spectroscope coïncide exactement avec l'image réelle que l'oculaire doit grossir. Cet instrument, appelé *microspectroscope*, imaginé et employé d'abord par Sorby, a été perfectionné depuis, notamment par Zeiss. La pièce qui constitue en réalité le microspectroscope est adaptée simplement sur

(1) Voyez la note (1) de la page 15.

le tube d'un microscope ordinaire, à la place de l'oculaire (fig. 5). On trouve successivement dans cette pièce, en allant de haut en bas, le prisme d'Amici ou de Hoffmann H, la première lentille de l'oculaire O, la fente spectrale F, et la deuxième lentille de l'oculaire O'. La fente qu'on peut élargir à volonté, est munie, comme celle du spectroscope ordinaire, d'un petit prisme à réflexion totale P, pouvant fournir, grâce à un orifice latéral F' un spectre de comparaison. Un deuxième orifice latéral situé un peu plus haut, à la hauteur du prisme, sert à projeter dans l'appareil l'image d'un micromètre M. Ordinairement, l'extrémité supérieure de l'appareil dans laquelle est logé le prisme, peut être soit déplacée autour d'un axe excentrique, soit complètement enlevée. L'oculaire se trouve ainsi découvert, et il suffit alors d'élargir convenablement la fente pour pouvoir se servir de l'instrument comme d'un microscope ordinaire.

Lorsque la préparation à examiner au microspectroscope présente une étendue considérable, on peut se passer complètement de l'objectif. Sinon, on se servira d'un objectif aussi faible que possible et à grande ouverture.

§ II. — LES SPECTRES D'ÉMISSION ET LES SPECTRES D'ABSORPTION AU POINT DE VUE QUALITATIF.

A. SPECTRES D'ÉMISSION.

Lorsqu'on chauffe progressivement un corps, par exemple un fil de platine, on constate qu'il émet d'abord des radiations de chaleur obscure; puis vers 525°, il commence à devenir lumineux. Ces radiations lumineuses ne sont jamais simples. Elles constituent un mélange dont la réfrangibilité varie en même temps que la température s'élève. De telles radiations analysées au spectroscope fournissent un spectre dit *spectre d'émission*.

L'étude des spectres d'émission conduit tout d'abord à cette remarque importante: c'est que tous ces spectres sont *continus* si les substances rayonnantes sont *solides* ou *liquides*. Ainsi, lorsqu'on chauffe progressivement un fil de platine, il émet d'abord de la lumière rouge, puis le spectre s'étend peu à peu et sans discontinuité jusqu'au violet. Nulle part on ne constate de raies sombres analogues à celles qui sillonnent le spectre solaire. Ces spectres continus s'observent par exemple avec la chaux incandescente de la lumière de Drummond ou avec les charbons de l'arc voltaïque, ou plus simplement avec la flamme éclairante d'un bec Bunsen ou d'une lampe à huile, car ces flammes tiennent en suspension des particules de charbon incandescentes.

Au contraire, le rayonnement d'un gaz ou d'une vapeur incandescente, décomposé par un prisme, fournit un spectre *discontinu*, formé d'un petit nombre de lignes lumineuses, étroites et irrégulièrement distribuées, mais dont la position est absolument invariable pour un même gaz (1). Ces spectres de lignes

(1) Lorsqu'on élève progressivement la température d'un gaz ou d'une vapeur, on obtient d'abord un *spectre de bandes* brillantes. Ce n'est qu'à une température suffisamment élevée que se produit le *spectre de lignes* qui seul est constant et caractéristique pour chaque substance.

avaient été étudiés bien avant Kirchhoff et Bunsen, par un grand nombre d'observateurs, notamment en France par Masson et Foucault (1). Mais ces résultats étaient épars, et la liaison qui existait entre eux, quoique soupçonnée, avait échappé à tout le monde, quand Bunsen et Kirchhoff (2) publièrent, en 1855, leur travail célèbre sur la recherche des métaux alcalins, à l'aide des spectres de lignes de leur vapeur. La technique de cette méthode va être exposée dans un instant.

De ces quelques notions générales que nous avons cru utile de rappeler rapidement, se déduisent aisément les applications à la chimie biologique, de l'étude des spectres d'émission. On voit immédiatement que ces applications se restreignent nécessairement à l'*étude des cendres*. En effet, tous les éléments organiques de l'économie végétale ou animale, fournissent, lorsqu'on les introduit dans la flamme incolore d'un brûleur de Bunsen, un spectre absolument continu qui est celui du carbone incandescent. Seules les parties minérales de nos tissus, lorsqu'on les a soigneusement débarrassées de charbon, se comportent d'une façon particulière.

Examen des cendres. — L'extrémité d'un fil de platine assez fin est recourbée en anse, puis chauffée au rouge blanc dans la flamme incolore d'un bec Bunsen jusqu'à ce que cette flamme cesse de se colorer. En mouillant alors légèrement l'extrémité du fil refroidi, on ramasse dans la petite anse une portion des cendres à examiner et on la fait fondre en une perle. D'autre part, on installe devant la fente du spectroscope, et à une distance d'environ 5 à 10 centimètres, une lampe à gaz de Bunsen, munie d'une petite cheminée et disposée de telle façon que l'extrémité supérieure de la cheminée soit située 3 à 4 centimètres plus bas que l'extrémité inférieure de la fente du spectroscope. Les deux tiers supérieurs de la flamme se trouvent ainsi en face de la fente et dans le prolongement de l'axe du collimateur. On s'assure qu'il en est réellement ainsi, en faisant brûler la lampe avec sa flamme éclairante et en constatant que l'image spectrale que l'on voit dans la lunette est aussi intense que possible. Cela fait, on reproduit la flamme obscure, on éclaire d'autre part l'échelle micrométrique et on introduit dans la flamme l'extrémité du fil de platine portant la perle. L'autre extrémité est fixée par l'intermédiaire d'un petit tube de verre dans la pince d'un support. On observe alors un spectre discontinu dans lequel on aperçoit toujours la raie jaune caractéristique du sodium et, le plus souvent, à côté, la raie rouge du potassium. On repère, à l'aide du micromètre, la situation de toutes les raies visibles et, en se reportant à la table ou à la courbe que l'on a dressée, on détermine la nature des métaux correspondant au spectre observé.

B. SPECTRES D'ABSORPTION.

L'étude des spectres d'absorption présente pour le chimiste biologiste un intérêt plus considérable. Elle peut servir au point de vue qualitatif, non seule-

(1) Voyez Jamin et Bouty, *Cours de physique de l'École polytechnique*, 3e éd. t. III, 3e fasc., p. 124.

(2) Bunsen et Kirchhoff, *Ann. de Pogg.*, t. CX, p. 161, et t. CXIII, p. 337.

ment à reconnaître des matières colorantes déterminées, mais encore à compléter et à rendre plus caractéristiques un grand nombre de réactions chimiques.

Lorsque sur le trajet d'une source lumineuse fournissant un spectre continu, on place un vase à faces parallèles contenant une solution colorée, et qu'on examine au spectroscope la lumière ainsi modifiée, on constate, si la solution est suffisamment concentrée, que des parties plus ou moins étendues du spectre ont été absorbées par le liquide ou en général, par le milieu coloré. Si on dilue la solution, ou si on l'examine sous une épaisseur de plus en plus faible, on voit réapparaître peu à peu les régions spectrales obscurcies jusqu'à ce qu'enfin la totalité du spectre soit redevenue visible.

Les apparences varient beaucoup avec les matières colorantes, et les spectres observés rentrent ordinairement dans l'une des trois ou quatre catégories suivantes. Certaines substances n'absorbent qu'une extrémité du spectre, le plus souvent l'extrémité violette, l'absorption décroissant progressivement du violet au rouge. Le perchlorure de fer, l'acide picrique, la bilirubine, la biliverdine en solution alcaline, etc., se comportent de cette façon. D'autres fois l'absorption est maxima aux deux extrémités et décroît régulièrement vers le milieu du spectre. Dans ces deux cas, la dilution progressive fait réapparaître peu à peu et sans discontinuité les parties obscurcies. Au contraire, d'autres matières colorantes, et le plus souvent celles qui présentent les couleurs les plus vives, fournissent des spectres discontinus, lorsqu'on dilue convenablement leurs solutions. Il arrive en effet que l'action absorbante exercée par certaines matières colorantes varie brusquement d'une région spectrale à la suivante, ce qui se traduit par l'apparition de *bandes d'absorption*. Ces bandes sont tantôt à bords assez nets, tantôt au contraire à bords dégradés. Un grand nombre de matières colorantes d'origine animale ou végétale (hémoglobine, oxyhémoglobine, hématine, urobiline, chlorophylle, etc.), se comportent de cette façon. Il est à remarquer que la plupart des bandes d'absorption des substances solides ou liquides sont situées dans la partie la moins réfrangible du spectre, entre B et F. (Les gaz et les vapeurs, au contraire, ont un spectre d'absorption présentant des lignes obscures qui se répartissent dans toute l'étendue du spectre.)

La position des bandes d'absorption n'est pas absolument constante. Elle varie, d'après Vogel, avec l'indice de réfraction du dissolvant. Des dissolvants non neutres exercent une action modificatrice encore plus marquée. De semblables déplacements des bandes d'absorption sous l'influence de causes diverses ont été observés par Kühne (1), Krukenberg (2) et notamment avec des matières colorantes d'origine animale et végétale. (Lipochrome, hématine, hématoporphyrine, turacine, etc.) D'après quelques observateurs, le mélange de deux matières colorantes pourrait amener également un déplacement ou une modification souvent assez sensible des bandes d'absorption, surtout quand les deux sub-

(1) Kühne, *Unters. a. d. physiol. Inst. d. Univ. Heidelberg*, t. I, 1878, p. 341-369, et t. IV, 1882, p. 162-248.

(2) Krukenberg, *Grundriss der med. chem. Analyse*. Heidelberg, 1884. — Le même, *Die Farbstoffe der Vogeleierschalen*. Würzburg, 1883, p. 115. — Consulter aussi : A. Kundt, *Annal. d. Chem. u. Physik*, 1874. Jubelband, p. 615-624.

stances présentent des bandes dans des régions spectrales très voisines (1). Il est probable que dans ces cas il se produit des actions chimiques entre les diverses matières colorantes et le dissolvant, avec production de corps nouveaux. Il suffit de rappeler, à cet égard, qu'une trace de chaux fait disparaître aussitôt les bandes qui caractérisent les solutions aqueuses alcalines de purpurine (2). — Il importe, du reste, si l'on veut se rendre un compte exact de ces phénomènes, de ne pas se contenter d'une simple inspection des spectres. On montrera plus loin, à propos de l'analyse spectrale quantitative (voy. p. 23) combien une observation purement qualitative peut être parfois insuffisante et fautive. Ajoutons que les recherches de Vierordt sur le dosage simultané, par voie spectrophotométrique, de deux matières colorantes mélangées dans un même véhicule, semblent établir nettement que, s'il n'y a pas réaction chimique entre les deux substances, il y a indépendance absolue dans l'effet absorbant que chacune d'elles exerce sur la lumière (voy. p. 25).

Telles sont les conditions générales de l'étude des spectres d'absorption. Il nous reste à exposer maintenant le mode opératoire et la façon de traduire les phénomènes observés.

Examen des spectres d'absorption. — La source lumineuse employée doit fournir un spectre continu et d'une assez grande intensité. Une bonne lampe à pétrole avec une mèche ronde de 15 à 20 millimètres de diamètre est d'un emploi très commode. On la dispose à 15 centimètres environ de la fente et de telle façon que le bord supérieur de la mèche soit un peu au-dessous du prolongement de l'axe du collimateur. On peut aussi se servir de la lumière solaire directe ou de la lumière diffuse réfléchie par un miroir. Lorsque l'appareil dont on dispose ne fournit pas un spectre assez lumineux, on peut, comme le recommande Vogel, enlever complètement la lunette et observer le spectre en regardant directement dans le prisme. Beaucoup d'observateurs se servent du spectroscope de poche, à vision directe, qui a été décrit à la page 8.

Les solutions colorées sont introduites dans de petits vases en verre blanc, à faces planes parallèles, appelés cuves d'absorption, que l'on dispose sur un support à plate-forme mobile et que l'on applique directement contre la fente de l'appareil. Elles doivent être aussi limpides que possible, car un simple louche occasionne des pertes de lumière considérables. Il faut en outre qu'elles soient d'abord aussi concentrées que possible, afin qu'on puisse les diluer progressivement, et observer ainsi les modifications souvent très caractéristiques que subit le spectre. Cette dilution progressive de la liqueur est une opération assez incommode. En outre, pour recommencer l'observation, on est obligé de diluer une nouvelle quantité de la solution primitive, ce qui constitue un inconvénient assez grave dans les recherches biologiques, où l'on ne dispose souvent que d'une quantité très limitée de liquide. Il est plus commode de faire varier l'épaisseur de la couche absorbante. Pour des recherches d'une moindre exactitude, on se sert avec avantage de ces petits flacons à tranche rectangulaire, à faces paral-

(1) Kundt, *ibid.* — Krüss, *Ber. d. d. Chem. Gesellsch.*, t. XV, 1882, p. 1243-1249. — Krüss et Oeconomides, *ibid.*, t. XVI, 1883, p. 2051-2056. — Hansen, *Die Farbstoffe der Blüthen u. Früchte*, in : *Verhandl. d. phys. med. Gesellsch. zu Würzburg*. N. F., t. XVIII, n° 7, 1884.

(2) H.-W. Vogel, *Pract. Spectralanalyse irdischer Stoffe*. Nördlingen, 1877, p. 212 et 263.

lèles (flacons de parfumeurs) que l'on trouve facilement dans le commerce. Ces flacons, qui sont beaucoup moins coûteux que les cuves d'absorption des constructeurs et plus faciles à nettoyer, ont en général une largeur intérieure de 4 centimètres sur une épaisseur de 1 centimètre. Ils permettent d'observer successivement sous deux épaisseurs qui sont quadruples l'une de l'autre. On peut aussi se servir comme cuve d'absorption d'un prisme creux, dans lequel on introduit la solution colorée et que l'on déplace devant la fente du spectroscope au besoin sur une échelle graduée, de façon à observer des épaisseurs variables, et à chaque instant connues, du milieu coloré. Il est plus commode encore de faire usage d'un lactoscope de Donné agrandi. L'écartement des deux glaces peut être apprécié au moyen d'une graduation munie d'un vernier donnant le 1/10 de millimètre.

Cet appareil permet d'étudier des couches colorées de 4 à 5 centimètres d'épaisseur. Il est quelquefois nécessaire d'observer sous des épaisseurs plus considérables encore des liquides très peu colorés, tels que le sérum sanguin, et qu'on ne pourrait sans inconvénient concentrer par évaporation. On emploie dans ce cas des tubes analogues à ceux qui servent aux examens polarimétriques. M. de Thierry (1) a construit récemment, pour l'examen du sang et des liquides colorés de l'organisme, un spectroscope très bien conçu, muni de dispositifs particuliers et permettant d'observer des épaisseurs de liquide qui peuvent atteindre plusieurs mètres.

Représentation des spectres d'absorption. — On indique généralement la situation des bandes d'absorptions que présente un spectre en notant à l'aide du micromètre la position de ces bandes par rapport aux raies de Fraunhofer du spectre solaire. On dira par exemple qu'une bande d'absorption est située entre D et E plus près de E que de D. On peut aussi en preuant au micromètre les limites de la bande et en se reportant à la courbe construite pour l'appareil, trouver les longueurs d'onde des rayons qui limitent la bande d'absorption. Stokes indique la position des bandes d'une manière particulière que Vierordt et Hüfner ont adoptée pour leurs études spectrophotométriques. Il suppose divisé en 100 parties égales l'espace qui sépare deux lignes de Fraunhofer. La notation C 50 D — C 80 D par exemple, indique alors la position d'une bande spectrale qui irait de la division 50 à la division 80, l'espace total C — D étant supposé partagé de C à D en 100 divisions égales. Ainsi la seconde bande de l'oxyhémoglobine va de D 63 E à D 84 E. C'est là une manière assez commode de transformer les indications d'une échelle micrométrique arbitraire en une notation directement applicable à n'importe quel instrument. Ainsi je suppose qu'une bande aille de la division micrométrique 125 à la division 140, la raie D étant à 100,0 et la raie E à 152,5. Si maintenant on suppose que l'espace D — E est divisé non pas en 52,5, mais en 100 divisions égales, on calculera aisément que sur cette échelle fictive la bande irait de la division 47 à la division 76 et sa position sera définie par la notation : D 47 E — D 76 E, absolument indépendante de l'échelle et de l'instrument employés (2).

(1) M. de Thierry, *Sur un nouvel appareil appelé héma-spectroscope*, voir *Comptes rendus*. t. C, p. 1244-1246, et t. CI, p. 811-814.

(2) Voy. dans l'ouvrage déjà cité de Vogel, p. 220, l'échelle particulière (*échelle d'interférence*) et la notation dont se sert Sorby.

Mais la position des bandes ne constitue pas un renseignement suffisant. Il faut indiquer en outre si la bande est plus ou moins obscure, à bords lavés ou non. La représentation des spectres d'absorption à l'aide de planches est dispendieuse et de plus fréquemment fautive. Aussi a-t-on cherché des modes de représentation graphique plus simples. Sur une ligne horizontale servant d'abscisse, on trace des lignes verticales représentant les raies de Fraunhofer; l'absorption exercée par une substance est alors représentée par une courbe dont les ordonnées sont en chaque point proportionnelles à l'intensité de l'absorption. La figure 6 représente le spectre d'absorption du sang artériel dilué (n° 1), avec la représentation graphique de ce spectre d'après la méthode qu'on vient d'indiquer (n° 2).

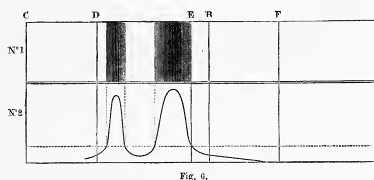


Fig. 6.

Il est bon de faire remarquer que les ordonnées de ces courbes ne sont en aucune façon proportionnelles aux quantités de lumière absorbées en chaque point du spectre. Ces courbes représentent quelque chose de tout à fait subjectif. Car, si l'on fait par voie spectrophotométrique la mensuration exacte des quantités relatives de lumière absorbées en chaque point du spectre, on arrive à des courbes qui souvent diffèrent notablement des précédentes. Ainsi l'étude photométrique du spectre de l'oxyhémoglobine montre que dans la région de la seconde bande, l'absorption est plus forte que dans la première, bien que cette dernière paraisse sensiblement plus sombre. Cela tient à ce fait que la première bande se trouvant près du rouge qui est une région très lumineuse, ressort plus nettement que la seconde. Vierordt (1), qui le premier a attiré l'attention sur des faits de ce genre, a proposé un mode de représentation graphique des spectres d'absorption fondé sur l'étude photométrique des spectres (2). Mais la lecture des graphiques de Vierordt, et surtout leur établissement, ont l'inconvénient d'être un peu délicats et conviennent plutôt à des recherches de physique pure. Dans la pratique de l'étude qualitative des spectres d'absorption, l'emploi des graphiques ordinaires, dont il vient d'être question, est commode et suffisant.

Telles sont les conditions générales de l'application du spectroscope à l'étude

(1) Vierordt, *Die Anwendung der Spectralapparates zur Photometrie*, etc., Tübingen, 1873, p. 110.

(2) Le même, *Die graphische Darstellung der Absorptionsspectren*, in *Poggendorff's Annal.*, t. CLI, 1874.

qualitative des spectres d'absorption. Il est à peine nécessaire d'insister en terminant sur l'importance que présente en biologie ce chapitre de l'analyse chimique. L'étude si fructueuse des matières colorantes du sang et de leurs dérivés (hémoglobine, oxyhémoglobine, hémoglobine oxycarbonique, méthémoglobine, etc.), des matières colorantes végétales (chlorophylle, xanthophylle, etc.) en témoigne suffisamment. Ce sont là des applications du spectroscope à la chimie physiologique qui sont devenues presque banales. Il en est d'autres, moins connues qui seront indiquées à leur place dans la partie théorique de cet ouvrage, mais sur lesquelles il peut être bon d'attirer l'attention dès maintenant. L'étude des spectres d'absorption complète, en les rendant plus précises, un grand nombre de réactions de coloration utilisées en chimie biologique. Ainsi, on sait que la réaction de Pettenkoffer pour les acides biliaires n'est caractéristique qu'en l'absence d'un certain nombre de substances (albumine, etc.). Ces corps donnent également avec le sucre et l'acide sulfurique des colorations rouges qui peuvent induire en erreur. Mais on ne sera jamais embarrassé, si on examine au spectroscope le produit obtenu, ce qui se fait très rapidement en appliquant contre la fente de l'instrument le tube dans lequel on a fait la réaction (1). On observera, dans ce cas, pour la réaction des acides biliaires un spectre tout à fait caractéristique (2). Krukenberg (3) a étudié de cette façon un grand nombre d'autres réactions colorées et a donné le graphique des spectres d'absorption caractéristiques. Ces recherches ont eu pour objet notamment : la réaction d'Adamkiewicz pour les matières albuminoïdes, celle de Weyl pour la créatinine, les réactions colorées de l'indol, la réaction de l'indican dans les urines normales et pathologiques, les colorations que donne le perchlorure de fer avec certaines urines (urines diabétiques, etc.). L'emploi du spectroscope donne également plus de sûreté aux réactions si curieuses que fournissent parfois les urines avec le réactif d'Ehrlich, et dont cet auteur a pu tirer des conclusions cliniques si intéressantes. Citons encore la réaction de Penzoldt pour la recherche du glucose, celle de Schiff pour la recherche de l'urée. — Enfin le spectroscope peut servir à étudier *directement* sur l'économie animale un certain nombre de phénomènes. Dans cet ordre de recherches rentrent, par exemple, le travail d'Hénocque (4) sur les réactions spectroscopiques du sang à la surface sous-unguéale du pouce, ou encore celui de Quincke (5), qui, en examinant au spectroscope la lumière réfléchie par la peau des ictériques, a rendu probable l'existence d'une forme particulière d'ictère, admise par plusieurs cliniciens et qui serait due à

(1) On comprend aisément, sans qu'il soit nécessaire d'insister davantage, combien les petits spectroscopes de poche, à vision directe (voy. p. 8), sont d'un emploi commode pour ce genre de recherches, où il s'agit simplement de reconnaître un spectre connu, décrit à l'avance. Le plus souvent, il suffit de braquer l'instrument vers les nuées qui fournissent d'ordinaire un spectre suffisamment lumineux. Aussitôt l'observation faite, l'instrument peut être remis dans son étui, à l'abri des vapeurs corrosives.

(2) Maly, *Die Verdauungssäfte und die Verdauung* in *Hermann's Handbuch d. Physiol.*

(3) Krukenberg, *Zur Charakteristik einiger physiol. u. klin. wichtigeren Farbenreactionen*, in *Verhandl. d. phys. med. Gesellsch. zu Wurzburg*, t. XVIII, n° 9, 1884.

(4) Hénocque, *Comptes rendus de la Soc. de biol.*, 8e série, t. I, nos 41, 42, 44, 1884, et t. II, nos 1 et 4, 1885. — Voy. aussi le chapitre relatif à l'*analyse du sang*.

(5) Quincke, *Arch. f. path. Anat.*, t. XCV, p. 125-139.

l'hydrobilirubine. Les colorations particulières de la peau dans un certain nombre d'affections (maladie bronzée d'Addison, par exemple) pourraient également être étudiées avec fruit à l'aide de ce procédé.

§ III

LA SPECTROPHOTOMÈTRIE ET L'ANALYSE SPECTRALE QUANTITATIVE.

GÉNÉRALITÉS.

Depuis quelques années, les observations spectroscopiques ne se font plus uniquement dans un but qualitatif. L'analyse quantitative des liquides colorés a trouvé, dans l'étude des spectres d'absorption, un secours précieux. Il convient de distinguer et de séparer immédiatement quelques procédés *spectroscopiques* dont le point de départ est purement empirique, et la méthode *spectrophotométrique*, c'est-à-dire l'application, au dosage des matières colorantes, de la loi numérique qui règle l'absorption de la lumière par un milieu homogène.

Ces procédés empiriques ne sont, en réalité, qu'un perfectionnement du procédé dit « colorimétrique » (1) que l'on applique depuis longtemps au dosage approximatif des matières colorantes. On sait que le liquide à examiner, introduit dans une cellule en verre et disposé sur un fond blanc, est dilué progressivement jusqu'à ce qu'il présente la même intensité de coloration qu'une solution type, d'un titre connu et observée dans des conditions identiques d'épaisseur et d'éclairement. A ce moment, la solution à titrer et l'étalon employé ont sensiblement, sous des volumes égaux, la même richesse en matière colorante. Ce procédé, qui a été appliqué notamment au dosage de l'oxyhémoglobine du sang, présente un inconvénient grave. En effet, prenons pour exemple les solutions sanguines. On sait que ces solutions exercent une absorption énergique sur la région verte du spectre, très faible, au contraire, sur les rayons rouges. Il en résulte que, par suite de la grande quantité de lumière rouge transmise, la variation de l'absorption dans la région verte, où l'intensité lumineuse éprouve l'affaiblissement le plus notable, n'est plus sensible à l'œil. La lumière *totale* transmise varie donc peu pour un notable accroissement de la richesse du liquide. Cet inconvénient disparaît, si l'on observe non plus la lumière totale transmise par la solution, mais seulement la couleur spectrale pour laquelle la matière colorante exerce l'absorption la plus énergique, — la région verte par conséquent, dans le cas de l'oxyhémoglobine. A cet effet, on examine au spectroscope les deux solutions à comparer, et on les dilue progressivement jusqu'à ce que — toutes choses étant égales d'ailleurs — elles présentent, dans une région spectrale sensible, un même phénomène optique bien déterminé. Ce sera, par exemple pour l'oxyhémoglobine, l'appari-

(1) Voy. à l'article : *Analyse du sang; dosage de l'oxyhémoglobine.*

tion de l'espace vert qui sépare les deux bandes, ou encore l'égale largeur de ces bandes.

Ces divers procédés, qui ont été modifiés de bien des façons, n'ont guère été appliqués qu'à l'étude du sang. Leur valeur sera discutée en même temps que celle des autres procédés de dosage de l'oxyhémoglobine. Pour l'instant, il nous suffit de faire ressortir que le point de départ de cette méthode *spectroscopique* est purement empirique, et que toujours on en revient à *comparer*, directement ou indirectement, la solution à titrer avec une solution type, de concentration connue.

Tout autre est le principe sur lequel repose la méthode *spectrophotométrique* que nous allons exposer maintenant. Ce principe est le suivant, à savoir que la diminution d'intensité que subit un faisceau de lumière par suite de son passage à travers une solution colorée, est fonction de la richesse de cette solution en matière colorante, toutes choses étant égales d'ailleurs. On verra tout à l'heure quelle est la nature de cette relation. Pour l'instant, il nous suffit de montrer que le problème à résoudre se ramène pratiquement à une question de *photométrie :* Étant donnés deux faisceaux lumineux d'intensité égale, dont l'un A, est perçu directement par l'observateur, et l'autre B, perçu seulement après passage à travers la solution colorée, il s'agit de mesurer l'intensité relative de ces deux faisceaux et d'apprécier ainsi l'affaiblissement subi par le faisceau B, sous l'action du milieu coloré. La valeur de cet affaiblissement permettra de calculer ensuite le titre de la solution colorée.

Il semble donc qu'au moins en principe, un photomètre quelconque puisse servir à ce genre de déterminations quantitatives. Il n'en est rien ; en effet, on montrera plus loin que la loi qui relie l'absorption de la lumière par les solutions colorées à la concentration de ces solutions ne s'applique qu'à une lumière *homogène*. Il est donc indispensable de décomposer à l'aide d'un prisme les deux faisceaux de lumière composée, A et B, et de mesurer par comparaison, non plus l'affaiblissement total subi par l'*ensemble des rayons hétérogènes* qui composent le faisceau B, mais l'absorption exercée par la solution colorée sur une couleur spectrale simple, c'est-à-dire sur une lumière aussi *homogène* que possible. Bien entendu, on choisit chaque fois la région spectrale dans laquelle la matière colorante exerce l'absorption la plus énergique. Ajoutons qu'au besoin, cette mesure photométrique pourra être faite successivement dans plusieurs régions du spectre. — La méthode mérite donc bien la dénomination de méthode *spectrophotométrique*, et, en principe du moins, il suffit, pour construire un spectrophotomètre, de combiner un spectroscope avec l'un ou l'autre des nombreux photomètres qui ont été imaginés, en France, par Arago, Bouguer, Foucault, de la Prévostaye et Desains, Jamin, Becquerel..., en Allemagne, par Zœllner, O. Hagen, Wild, et d'autres physiciens (1).

Telles sont les conditions générales du problème. Étudions maintenant de plus près le principe de la méthode, tel qu'il a été posé par Bunsen et Roscoe (2).

(1) Voy. p. 29.

(2) Bunsen et Roscoe *Poggendorff's Annalen*, t. C, CVIII, CXVII et surtout t. CI, p. 235, 1857.

et développé par Vierordt (1). C'est principalement à ce dernier que revient le mérite d'avoir donné, par de longues et patientes déterminations, une base expérimentale sérieuse aux vues théoriques émises par Bunsen. C'est également Vierordt qui a formulé de la manière la plus claire les principes fondamentaux de la méthode et qui, le premier, l'a rendue pratiquement applicable à l'examen des liquides colorés de l'organisme.

Principes de la méthode spectrophotométrique. — L'affaiblissement que subit un rayon lumineux par son passage à travers une solution colorée ne dépend évidemment, pour une même substance, que du nombre de molécules absorbantes rencontrées par le rayon lumineux, c'est-à-dire que l'absorption varie à la fois avec l'épaisseur et la concentration de la solution. Une épaisseur de liquide double produit le même effet absorbant qu'une solution de concentration double observée sous épaisseur deux fois plus faible. Mais il ne faudrait pas conclure de là, que la *quantité de lumière* observée croît proportionnellement à l'épaisseur ou à la concentration. La relation est plus complexe. En effet :

Supposons qu'un rayon lumineux, d'intensité égale à I, passant à travers l'unité d'épaisseur d'un liquide coloré, en sorte avec une intensité réduite à $\frac{I}{n}$; après son passage à travers une seconde couche identique à la première, l'intensité sera encore affaiblie dans le rapport $\frac{1}{n}$ et sera devenue par conséquent $\frac{I}{n} \times \frac{1}{n} = \frac{I}{n^2}$. Il en résulte qu'après le passage à travers e couches d'épaisseur égale à 1, *l'intensité lumineuse restante* I' sera devenue :

$$I' = \frac{I}{n^e}.$$

L'expérience montre que l'intensité de la lumière incidente, qu'elle soit forte ou faible, est toujours réduite par l'unité d'épaisseur de chaque solution colorée, à la même fraction $\frac{1}{n}$ de sa valeur primitive. Puisque cette intensité peut être quelconque, posons-là égale à l'unité; il vient alors :

$$I' = \frac{1}{n^e},$$

et comme le rapport $\frac{1}{n}$ est constant pour une même solution colorée, la fraction $\frac{1}{n^e}$, qui représente l'intensité lumineuse restante, ne varie, pour un même liquide, qu'avec e, c'est-à-dire avec l'épaisseur de la solution, et se trouve être, par conséquent, tout à fait indépendante de la source lumineuse employée.

On pourra donc donner une idée du pouvoir absorbant de deux solutions d'une même matière colorante, en indiquant, pour chacune d'elles, les épais-

(1) Vierordt, *Die Anwendung des Spectralapparates zur Messung*, etc., Tübingen, 1871. — Le même, *Die Anwendung d. Spectralapparates zur Photometrie der Absorptionsspectren u. zur quant. chem. Analyse*, Tübingen, 1873. — Le même, *Die quantitative Spectralanalyse in ihrer Anwendung auf Physiologie*, etc., Tübingen, 1876.

seurs qui sont nécessaires pour réduire l'intensité d'un faisceau lumineux à une même fraction de sa valeur primitive. Ainsi, soient plusieurs solutions d'une même matière colorante, qui, sous des épaisseurs respectivement égales à :

$$1,\ \frac{1}{3},\ \frac{1}{4},\ \text{etc...}\ \frac{1}{\varepsilon}.$$

ramènent l'intensité d'un faisceau lumineux à une même fraction de sa valeur primitive, les pouvoirs absorbants de ces solutions pourront être respectivement représentés par les inverses,

$$1,\ 3,\ 4,\ \text{etc...}\ \varepsilon.$$

Coefficient d'extinction. — Bunsen appelle précisément coefficient d'extinction ε, d'une solution colorée, l'inverse du nombre exprimant l'épaisseur sous laquelle il faut examiner cette solution pour qu'elle réduise *au dixième* de sa valeur primitive l'intensité lumineuse d'un faisceau incident. — Montrons immédiatement l'intérêt que présente la considération du coefficient d'extinction de Bunsen, en établissant :

1° Que ce coefficient se calcule aisément si l'on connaît la fraction qui représente l'intensité lumineuse restante d'un faisceau qui a traversé une solution colorée — fraction fournie par l'observation photométrique;

2° Que ce coefficient est directement proportionnel à la richesse en matière colorante de la solution observée. En effet :

Soit un faisceau lumineux incident, d'intensité égale à 1, soit I', l'intensité après passage du faisceau à travers une solution colorée d'épaisseur e ; on a vu que :

$$I' = \frac{1}{n^e},$$

d'où

$$n^e = \frac{1}{I'}, \qquad (1)$$

$$e \log n = -\log I',$$

$$\log n = -\frac{\log I'}{e}. \qquad (2)$$

On a, d'autre part, par définition du coefficient d'extinction :

$$I' = \frac{1}{10} \ \text{et}\ e = \frac{1}{\varepsilon}.$$

Donc :

$$n^e = n^{\frac{1}{\varepsilon}} \ \text{et}\ \frac{1}{I'} = 10.$$

Si on transporte ces valeurs de n^e et de $\frac{1}{I'}$ dans l'équation (1), il vient

$$n^{\frac{1}{\varepsilon}} = 10$$

$$\frac{1}{\varepsilon} \log n = \log 10 = 1$$

$$\log n = \varepsilon.$$

En portant cette valeur de $\log n$ dans l'équation (2), on trouve :

$$\varepsilon = -\frac{\log I'}{e}.$$

Enfin, si l'on veut s'astreindre, ce qui n'est pas toujours possible, à observer les solutions sous une épaisseur constante de 1 centimètre, e devient égal à l'unité, et il vient :

$$\varepsilon = -\log I^1.$$

Le coefficient d'extinction d'une solution examinée sous une épaisseur égale à l'unité, s'obtient donc en prenant le logarithme négatif de la fraction qui représente l'intensité lumineuse restante.

Ainsi, supposons qu'une solution d'alun de chrome, observée sous une épaisseur de 1 centimètre, réduise l'intensité lumineuse de la région spectrale D 11 E — D 50 E, aux 445 millièmes de sa valeur primitive, l'intensité lumineuse restante I est donc représentée par 0,445, et l'on a :

$$\begin{aligned} \varepsilon &= -\log 0{,}445 \\ &= -(0{,}64832 - 1) \\ &= 0{,}35168. \end{aligned}$$

Le coefficient d'extinction de la solution d'alun de chrome observée est donc 0,35164, pour la région spectrale D 11 E — D 50 E. — Pour une même solution, ce coefficient est variable, bien entendu, selon la région spectrale observée. — Si la solution a été examinée sous une épaisseur de e centimètres, le coefficient trouvé est à diviser par e.

On voit donc que le coefficient d'extinction d'une solution s'obtient très aisément, si l'on connaît la fraction qui représente l'intensité d'un faisceau lumineux dans une région spectrale déterminée, l'intensité lumineuse primitive de cette région étant supposée égale à l'unité. — Laissons toujours de côté, pour l'instant, le côté expérimental, c'est-à-dire la manière de mesurer cette intensité lumineuse restante, et achevons d'exposer les conclusions théoriques auxquelles conduit la considération du coefficient d'extinction.

2° L'absorption de la lumière dépend à la fois de l'épaisseur et de la concentration de la solution. Supposons qu'une solution colorée d'une concentration égale à 1 et observée sous une épaisseur e affaiblisse dans une certaine proportion un faisceau lumineux. Pour qu'une solution de la même substance, mais d'une concentration triple produise le même effet absorbant, elle devra évidemment être observée sous une épaisseur égale à $\frac{e}{3}$; car, dans ces conditions, les rayons lumineux rencontreront, sur leur passage à travers les deux liquides, un nombre égal de molécules absorbantes. L'intensité lumineuse restante I' étant la même pour les deux solutions, les coefficients d'extinction seront, conformément à la formule qu'on vient d'établir :

Pour la solution de concentration 1,

$$\varepsilon = -\frac{\log I'}{e}$$

et pour la solution de concentration 3,

$$\varepsilon' = -\frac{\log 1'}{\frac{e}{3}} = -3\,\frac{\log 1'}{e} = 3\varepsilon.$$

Donc, *le coefficient d'extinction d'une solution est directement proportionnel à la richesse de cette solution en matière colorante.*

Rapport d'absorption. — Il résulte de la proposition qu'on vient d'énoncer, que si l'on désigne par c, c', c'',... les concentrations respectives d'une série de solutions, par ε, ε', ε'',... les coefficients d'extinction correspondants, on peut écrire :

$$\frac{c}{\varepsilon} = \frac{c'}{\varepsilon'} = \frac{c''}{\varepsilon''}, \text{ etc.} \ldots = \mathrm{A}.$$

Cette grandeur A, qui est constante pour chaque substance et pour une région spectrale déterminée a été désignée par Vierordt sous le nom de *rapport d'absorption*. Elle peut être déterminée facilement en mesurant le coefficient d'extinction d'une solution de concentration connue. Sa valeur est alors fournie par la relation :

$$\mathrm{A} = \frac{c}{\varepsilon}.$$

Mais comme on a d'autre part :

$$c = \mathrm{A}\,\varepsilon,$$

si l'on a déterminé une fois pour toutes le rapport d'absorption A, d'une matière colorante pour une région spectrale donnée, la concentration inconnue d'une solution quelconque de ce corps, s'obtient aisément en mesurant le coefficient d'extinction de cette solution pour la même région, et le multipliant par la constante A.

Montrons enfin que les propositions fondamentales qu'on vient d'établir, ne s'appliquent, comme il a été dit au début, qu'à une lumière homogène. En effet, la plupart des matières colorantes absorbent dans des proportions très variables les diverses couleurs du spectre. Supposons qu'un faisceau lumineux hétérogène, composé de deux couleurs, traverse l'unité d'épaisseur d'une solution colorée, et que l'une des couleurs soit affaiblie dans le rapport $\frac{1}{n}$, l'autre dans rapport $\frac{1}{n'}$. Le total des intensités lumineuses restantes sera donc :

$$\frac{1}{n} + \frac{1}{n'} = \frac{1}{q}.$$

Après passage à travers une deuxième couche d'épaisseur 1, les intensités restantes seront :

$$\frac{1}{n^2} + \frac{1}{n'^2},$$

somme qui n'est pas égale du tout à $\frac{1}{q^2}$.

La loi d'absorption n'est donc vraie que pour une lumière homogène.

Analyse spectrale quantitative. — Il est facile, en partant des données théoriques qui précèdent, de poser maintenant les règles générales de l'analyse spectrale quantitative. Étudions d'abord le cas où la solution ne contient qu'une seule matière colorante.

Dosage d'une matière colorante unique. — La relation fondamentale

$$c = A \varepsilon$$

que nous venons d'établir peut se traduire ainsi : *La richesse en matière colorante d'une solution s'obtient en multipliant le rapport d'absorption A de cette substance, déterminé une fois pour toutes et pour une région spectrale donnée, par le coefficient d'extinction de la solution colorée, mesuré dans la même région spectrale.*

Il est impossible de reproduire ici les nombreuses déterminations faites par Vierordt dans le but de vérifier l'exactitude de cette loi. Les quelques résultats que nous aurons l'occasion de citer dans le cours de cet exposé (1), montrent que les écarts observés rentrent en général dans les limites des erreurs inhérentes aux observations photométriques. La grandeur des écarts possibles, variables nécessairement avec l'appareil employé, sera établie plus loin en même temps que la valeur relative des divers spectrophotomètres. — Vierordt a constaté cependant que, dans l'extrémité violette du spectre, où les mensurations sont d'ailleurs assez incertaines, le rapport d'absorption cesse d'être constant et qu'il varie un peu avec la concentration. La région violette est donc peu favorable à l'analyse quantitative. Au contraire, dans les parties plus lumineuses du spectre, la loi est très sensiblement vérifiée (2).

Admettons donc l'exactitude du principe énoncé et résumons rapidement les opérations essentielles que comporte une analyse spectrale quantitative. Les conditions générales que doit remplir un spectrophotomètre ressortiront naturellement de cet exposé. — Ces opérations sont les suivantes :

1° Le choix de la région spectrale;

2° La détermination du coefficient d'extinction de la solution colorée;

3° La détermination du rapport d'absorption de la matière colorante étudiée.

Étudions successivement ces trois points.

1° Les régions spectrales les plus favorables à l'analyse sont celles qui présentent pour de petites différences de concentration ou d'épaisseur, des variations notables dans l'absorption lumineuse. Il est donc nécessaire de déterminer au préalable par une série de mesures photométriques la marche de l'absorption dans les différentes régions du spectre. Les bandes d'absorption indiquent immédiatement les régions où l'absorption est maxima. Mais il est prudent de

(1) Voyez pages 25 et 26.

(2) Même dans les parties les moins réfrangibles du spectre, il semble que le rapport d'absorption varie un peu avec la concentration. Ainsi v. Noorden (*Zeitsch. f. physiol. Chem*, t. IV) a constaté que pour l'oxyhémoglobine, dans la région des deux bandes d'absorption, la valeur de A diminue avec des concentrations décroissantes. Settegast (*Wiedemann's Ann. d. Phys. u. Chem.*, t. VII, p. 242), qui opérait à la vérité avec un appareil différent et sur d'autres substances, est arrivé à une conclusion contraire. Mais ces oscillations sont très légères et négligeables dans la pratique.

ne pas s'en tenir à cet égard aux renseignements tout subjectifs que fournit une simple inspection du spectre. C'est ainsi que des mesures photométriques montrent que, pour l'oxyhémoglobine, l'absorption est maxima dans la région de la seconde bande (la plus voisine de E), bien que la première semble être manifestement plus sombre (1). Cette étude préalable du spectre est surtout utile, quand la substance soumise à l'analyse ne présente pas de bandes obscures, l'absorption décroissant régulièrement d'un bout du spectre à l'autre (bilirubine, biliverdine). Dans ce cas, on détermine successivement le coefficient d'extinction de la solution sous des épaisseurs variables, en divers points du spectre, et on choisit pour l'analyse une région qui soit *sensible*, c'est-à-dire qui, pour de petites différences d'épaisseur (ou de concentration), présente des variations notables dans l'absorption. Vierordt a fait ainsi l'examen photométrique d'un très grand nombre de substances organiques et minérales (2). Pour l'oxyhémoglobine par exemple, la région la plus sensible va de D 63 E à D 84 E (deuxième bande); pour l'alun de chrome, elle va de D 11 E à D 50 E, etc... En général, les maxima d'absorption sont situés dans la partie la moins réfrangible du spectre. C'est aussi dans cette région que la loi d'absorption se vérifie le plus exactement.

2° Le coefficient d'extinction se calcule d'après la formule établie plus haut :

$$\varepsilon = -\frac{\log I'}{e},$$

ou bien, si l'épaisseur du liquide observé est égale à l'unité (1 centimètre),

$$\varepsilon = -\log I'.$$

Il exige donc la détermination de l'intensité relative d'un faisceau lumineux qui a traversé une épaisseur connue de la solution colorée, l'intensité primitive du faisceau étant supposée égale à l'unité. Le principe d'une semblable mesure est le suivant : soient deux rayons lumineux (homogènes), A et B, d'intensité *égale*. L'un, A, est perçu directement; l'autre, B, n'est perçu qu'après passage à travers la solution colorée, et son intensité se trouve donc réduite à une certaine fraction de sa valeur primitive. Cette fraction peut aisément être appréciée en diminuant, à son tour, l'intensité de A, jusqu'à ce qu'elle soit égale à l'intensité restante de B. Si pour arriver à ce résultat, il faut réduire l'intensité de A au quart de sa valeur primitive, c'est que l'intensité de B avait été également réduite au quart par l'action absorbante de la solution. Il en résulte que l'intensité lumineuse restante de B, après passage à travers la solution colorée est exprimée par 0,25. C'est le logarithme négatif de cette fraction qui repré-

(1) Il suffit, pour se rendre compte de ce fait, de comparer les coefficients d'extinction des solutions de sang ou d'oxyhémogline dans les deux régions spectrales. Ainsi une solution contenant environ 0gr,12 d'oxyhémoglobine p. 100, a un coefficient d'extinction de 0,89197 dans la région de la première bande, et de 1,18040 dans la région de la seconde bande.

(2) Faisons remarquer ici que des matières colorantes dont le spectre ne présente aucune bande d'absorption, c'est-à-dire aucune particularité bien apparente, sont néanmoins nettement caractérisées par l'étude photométrique de leur spectre, à divers degrés de concentration. — Voy., à cet égard, les ouvrages déjà cités de Vierordt : *Die Anwendung der Spectralapparates*, etc., Tübingen, 1873, et *Die quantitative Spectralanalyse*, etc., Tübingen, 1876.

sente, ainsi qu'on l'a expliqué plus haut (p. 20) le coefficient d'extinction cherché (1). Il suffit donc, on le voit, d'imaginer un dispositif qui permette : 1° de réduire progressivement l'intensité de A, à une fraction à chaque instant connue de son intensité primitive ; 2° de constater que l'intensité de A est bien devenue égale à l'intensité restante de B. Les diverses solutions qu'a reçues ce problème seront étudiées plus loin.

On comprend que la concentration (ou l'épaisseur) de la solution observée doit être choisie de telle sorte que l'absorption dans la région spectrale étudiée ne soit ni trop forte ni trop faible. Une dilution trop forte, ou une épaisseur trop faible, abaisse le coefficient d'extinction et diminue l'exactitude du dosage. Des solutions trop concentrées, au contraire, donnent un spectre trop obscurci et rendent la mesure photométrique incertaine.

3° Le coefficient d'extinction d'une solution colorée étant proportionnel à la quantité de matière dissoute, n'exprime que la concentration *relative* de la solution.

La richesse absolue peut être calculée à l'aide de la relation fort simple établie plus haut :

$$c = A\varepsilon.$$

La détermination du rapport d'absorption A, de la matière colorante qu'on veut étudier est donc une opération préliminaire indispensable. La valeur de A s'obtient en prenant le coefficient d'extinction d'une solution de concentration c connue. Il vient alors :

$$A = \frac{c}{\varepsilon}.$$

Par concentration, Vierordt entend *le poids de matière colorante contenu dans un centimètre cube de la solution examinée* (2).

Comme cette valeur de A doit être fixée une fois pour toutes et doit servir de point de départ à tous les dosages ultérieurs, on prendra la moyenne d'un nombre de déterminations aussi grand que possible. Ainsi, soit à fixer le rapport d'absorption de l'alun de chrome pour la région spectrale D11E—D50E. A cet effet, on détermine au spectrophotomètre le coefficient d'extinction d'une série de solutions d'alun de chrome (au moins une dizaine) de concentrations variables. En divisant respectivement les concentrations par les valeurs correspondantes de ε, on obtient une série de valeurs du rapport d'absorption cherché. Le tableau ci-après résume quelques déterminations faites avec des solutions d'alun de chrome. Dans la première colonne figurent les concentrations des solutions ;

(1) Afin d'éviter ce calcul, Vierordt a dressé une table des coefficients d'extinction allant de 0,999 à 0,001. Cette table donne directement, vis-à-vis de l'intensité lumineuse trouvée au spectrophotomètre de cet auteur, le coefficient d'extinction cherché. Rappelons que si la solution a été examinée sous une épaisseur de e centimètres, le coefficient d'extinction trouvé est à diviser par e.

(2) Dans ses premières publications, Hüfner avait désigné par c la richesse en matière colorante de 100 centimètres cubes de la solution. Il en résultait que les rapports d'absorption étaient représentés par des nombres 100 fois plus grands que ceux de Vierordt. Mais afin d'éviter des confusions, Hüfner a adopté plus tard la convention de Vierordt.

dans la seconde, les intensités lumineuses restantes après passage à travers une épaisseur de liquide de 1 centimètre; dans la troisième, les coefficients d'extinction correspondants. Une quatrième colonne comprend les rapports d'absorption A, calculées chaque fois d'après la formule $A=\frac{c}{\varepsilon}$. La moyenne de ces résultats représente une valeur de A, d'autant plus approchée qu'elle résulte d'un nombre plus grand de déterminations. On contrôlera aisément l'exactitude du résultat obtenu, en calculant à l'aide de cette moyenne et des valeurs correspondantes de ε, la concentration des solutions employées. Ce sont ces concentrations calculées qui figurent dans la cinquième colonne. L'appareil employé était celui de Vierordt.

c	I'	ε	$A=\frac{c}{\varepsilon}$	$c=A\varepsilon$
0gr,03156	0,198	0,70336	0,04487	0,03141
0 ,01578	0,445	0,35168	0,04487	0,01570
0 ,00789	0,663	0,17827	0,04426	0,00795
		Moyenne	0,04466 = A'	

On voit que les coefficients d'extinction sont très sensiblement proportionnels aux valeurs correspondantes de c et que les écarts entre les concentrations vraies et les concentrations calculées à l'aide de la valeur moyenne de A sont très faibles.

Il arrive souvent, principalement pour les liquides d'origine animale, qu'il est impossible d'isoler la matière colorante et par conséquent de déterminer son rapport d'absorption. Il faut se contenter alors d'exprimer, au moyen du coefficient d'extinction, calculé toujours pour une même épaisseur de liquide, les richesses *relatives* en matière colorante.

Cas d'un mélange de matières colorantes. — 1° On a supposé jusqu'à présent des solutions colorées ne contenant qu'une seule substance. Qu'arrive-t-il lorsque le liquide examiné au spectrophotomètre contient deux matières colorantes pouvant coexister sans décomposition? Des considérations théoriques font prévoir que chaque corps agira sur la lumière comme s'il était seul dans la solution, et que le coefficient d'extinction du mélange sera égal à la somme des coefficients d'extinction que l'on observerait, si chacune des deux substances occupait seule toute la masse du véhicule. Vierordt a montré que l'expérience vérifie parfaitement cette hypothèse. Il a constaté, par exemple, qu'une solution contenant par litre 0gr,0312 de permanganate de potasse, plus 5 grammes de bichromate de potasse, présente dans une certaine région spectrale un coefficient d'extinction de 0,64017. Or si l'on a déterminé préalablement les rapports d'absorption de chacun des deux sels pour cette région, on peut calculer facilement, à l'aide de la relation $\varepsilon=\frac{c}{A}$, que le cofficient d'extinction de la solution serait de 0,2989 si elle ne contenait que le permanganate, et de 0,3561 si elle ne contenait que le bichromate, ce qui ferait un coefficient total de 0,6550. Pour une série d'autres mélanges, les résultats furent les suivants (1) :

(1) Ces expériences constituent un moyen indirect de s'assurer que deux matières colorantes peuvent coexister, dans un même liquide, sans décomposition. Il suffit de faire deux séries succes-

Coefficients d'extinction calculés.	Coefficients d'extinction observés.
0,1310	0,1302
0,2596	0,2604
0,5229	0,5208
0,4089	0,4031

Ces résultats traduits algébriquement, donnent une formule permettant de doser simultanément deux matières colorantes qui coexistent dans un mélange. Il sufit, pour cela :

1° D'être sûr que le liquide ne coutient que ces deux substances colorantes;

2° De connaître le rapport d'absorption de chacune d'elles, dans deux régions spectrales déterminées;

3° De mesurer au spectrophotomètre le coefficient d'extinction du mélange dans les deux régions.

En effet, désignons par :

x, le poids de l'un des corps par centimètre cube du mélange;

A et A′, ses rapports d'absorption, connus d'avance, pour deux régions spectrales;

y, le poids de l'autre substance, par centimètre cube du mélange;

A_1 et A'_1, ses rapports d'absorption, connus d'avance, pour les mêmes régions spectrales;

E, E′, les coefficients d'extinction du mélange dans ces mêmes régions.

On peut écrire que le coefficient d'extinction du mélange est égal à la somme des coefficients d'extinction de chacune des deux substances. On aura donc :

$$E = \frac{x}{A} + \frac{y}{A_1}$$

$$E' = \frac{x}{A'} + \frac{y}{A'_1}$$

D'où l'on tire :

$$x = \frac{AA'(E'A'_1 - EA_1)}{AA'_1 - A_1A'}$$

$$y = \frac{A_1A'_1(EA - E'A')}{AA'_1 - A_1A'}.$$

On verra plus loin comment Hüfner a appliqué cette formule au dosage simultané de l'oxyhémoglobine et de l'hémoglobine dans le sang.

2° Il peut arriver fréquemment, surtout dans des recherches physiologiques, qu'on ne soit pas renseigné du tout sur le nombre et la nature des matières colorantes contenues dans un liquide, ou encore qu'à côté d'une substance connue (hémoglobine, par exemple), on soupçonne l'existence de produits

sives de déterminations : Dans la première, on sépare les deux matières colorantes que l'on introduit chacune dans une cuve distincte. Les deux solutions sont successivement traversées par le faisceau lumineux et leurs actions absorbantes s'ajoutent ; dans la seconde, on observera le liquide résultant du mélange des deux solutions. Si les coefficients d'extinction observés dans les deux cas pour un certain nombre de régions spectrales (et calculés, bien entendu, pour une même épaisseur de liquide) sont identiques, c'est que les deux substances n'exercent pas l'une sur l'autre d'action chimique capable de modifier leurs propriétés optiques.

d'altération dont l'action absorbante viendrait fausser les résultats. La méthode spectrophotométrique est loin d'être désarmée dans ce cas.

En effet, soient A_1 et A_2 les rapports d'absorption d'une substance dans deux régions spectrales, et soit c la concentration d'une solution dont les coefficients d'extinction dans les deux mêmes régions sont ε_1 et ε_2. Il vient évidemment :

$$c = A_1 \varepsilon_1$$
$$c = A_2 \varepsilon_2 ;$$

d'où :

$$\frac{\varepsilon_1}{\varepsilon_2} = \frac{A_2}{A_1}.$$

Pour une solution de la même substance, mais de concentration différente c', on aurait encore :

$$\frac{\varepsilon'_1}{\varepsilon'_2} = \frac{A_2}{A_1},$$

c'est-à-dire en général :

$$\frac{\varepsilon_1}{\varepsilon_2} = \frac{\varepsilon'_1}{\varepsilon'_2} = \frac{\varepsilon''_1}{\varepsilon''_2}, \text{ etc.} \ldots = \frac{A_2}{A_1}.$$

Le quotient des coefficients d'extinction que présentent les solutions d'une matière colorante dans deux régions spectrales, est donc constant et égal à l'inverse du quotient des rapports d'absorption relatifs à ces mêmes régions (1).

Inversement on peut dire que *si un liquide, soumis à des précipitations fractionnées de nature variable, présente dans deux régions spectrales des coefficients d'extinction dont le quotient est constant, ce liquide ne contient qu'une seule matière colorante.*

De plus la valeur de ce quotient permet *d'identifier la matière colorante du liquide étudié avec une substance déjà isolée.*

Choisissons immédiatement un exemple bien topique. On verra plus loin que le spectrophotomètre a été appliqué au dosage de l'oxyhémoglobine du sang. Dans ce but, Hüfner a déterminé une fois pour toutes la valeur de la constante A, à l'aide de solutions titrées d'oxyhémoglobine cristallisée, bien pure. Il suffit alors de mesurer au spectrophotomètre le coefficient d'extinction des solutions sanguines étendues et agitées au contact de l'air, pour pouvoir calculer immédiatement la richesse de ces liquides en matière colorante, d'après la formule :

$$c = A \varepsilon.$$

Mais on admet ainsi implicitement : 1° que le sang ne contient qu'une seule matière colorante, l'oxyhémoglobine; 2° que cette substance se comporte optiquement de la même façon dans les solutions sanguines étendues et dans

(1) Voici quelques vérifications expérimentales directes de ce principe, empruntées à Vierordt. En mesurant les coefficients d'extinction de trois solutions de bichromate de potasse, il a trouvé pour les régions E80F — F et F21G — F32G :

	ε	ε'	$\frac{\varepsilon'}{\varepsilon}$
Solution à 1gr,25 p. 1000	0,5575	1,1185	2,0
— à 0 ,625 —	0,2718	0,5738	2,1
— à 0 ,312 —	0,1359	0,2840	2,1

les solutions préparées avec la matière colorante cristallisée. Il serait possible en effet que, dans le sang, d'autres substances, notamment la matière colorante jaune du sérum, ou peut être aussi des produits d'altération de l'oxyhémoglobine, produisissent un effet absorbant sensible et par suite préjudiciable à l'exactitude des résultats. D'autre part, il est probable que, dans le globule, l'oxyhémoglobine est faiblement combinée à des substances encore mal déterminées, et l'on peut se demander si, même dans le sang étendu d'eau, des phénomènes de ce genre ne viennent pas ajouter quelque chose aux effets optiques de l'oxyhémoglobine pure. On démontre aisément, en appliquant le théorème énoncé ci-dessus, que ces craintes ne sont pas justifiées. Citons, par exemple, quelques déterminations faites sur le sang de cheval par Bücheler (1), sous la direction de Hüfner.

Le tableau suivant indique dans les deux premières colonnes les coefficients d'extinction ε_0, ε'_0 que présentent une série de *solutions étendues de sang de cheval*, dans deux régions spectrales (D 32 E — D 53 E et D 63 E — D 84 E); dans la troisième, les valeurs du quotient $\frac{\varepsilon'_0}{\varepsilon_0} = \frac{A_0}{A'_0}$.

ε_0	ε'_0	$\frac{\varepsilon'_0}{\varepsilon_0} = \frac{A_0}{A'_0}$
0,74132	0.97854	1,320
0,62902	0,76866	1,222
0.65742	0,91381	1,390
0,62722	0,84075	1,340
0,57432	0,76385	1,330
0,73542	1.05606	1,436
0.53432	0,71544	1,339
0,88431	1,18497	1,340
0,53521	0,71343	1,333
0,64524	0,85617	1,330
	Moyenne. . . .	1,338

D'autre part, en déterminant les rapports d'absorption A_0 et A'_0 de l'*oxyhémoglobine cristallisée* de sang de cheval pour les mêmes régions spectrales, Bücheler a trouvé :

$$A_0 = 0,001360$$
$$A'_0 = 0,001031$$

d'où

$$\frac{A_0}{A'_0} = 1,325.$$

Ces résultats montrent : 1° que le rapport $\frac{\varepsilon_0}{\varepsilon'_0}$ est sensiblement constant, ce qui indique que le sang de cheval étendu d'eau ne contient qu'une matière colorante exerçant un effet optique sensible; 2° que la valeur moyenne de ce rap-

(1) Bücheler, *Beiträge zur Kenntniss des Pferdeblutfarbstoffs*, Dissert. inaug. Tübingen, 1883.

port 1,338 se confond sensiblement avec celle du quotient $\frac{A_0}{A'_0} = 1,325$ déterminé à l'aide de la matière colorante pure, et que par suite on est en droit d'appliquer à l'analyse du sang, les constantes fournies par l'oxyhémoglobine cristallisée.

Au contraire, toute altération de la solution sanguine, — introduction de quelques bulles d'oxyde de carbone, réduction spontanée d'une partie de l'oxyhémoglobine en hémoglobine, production de méthémoglobine, etc..., — se traduit aussitôt par une valeur nouvelle et sans cesse variable du quotient $\frac{\varepsilon'_0}{\varepsilon_0}$.

Il est inutile, ce semble, de faire ressortir davantage combien un moyen d'investigation aussi délicat est précieux pour l'étude des liquides colorés de l'organisme, et notamment pour identifier ou distinguer des substances encore mal connues, préparées par des procédés différents (1).

LES DIVERS SPECTROPHOTOMÈTRES.

On a expliqué plus haut (p. 17 et p. 23) le problème photométrique auquel aboutit pratiquement la méthode qui nous occupe : deux faisceaux de lumière, primitivement égaux en intensité, mais dont l'un est ultérieurement modifié par la solution à analyser, sont décomposés par un prisme et fournissent chacun un spectre; il s'agit de comparer l'intensité lumineuse que présentent ces deux spectres, mais seulement dans une portion limitée de leur étendue. Les appareils employés à cet effet se composent essentiellement d'un spectroscope auquel viennent s'ajouter les pièces du photomètre.

Deux méthodes photométriques principales ont été adoptées (2). La première consiste à amener au contact les deux images qu'il s'agit de comparer et à faire varier l'intensité de l'une d'elle jusqu'à ce que les deux plages ainsi juxtaposées paraissent également éclairées. De là la dénomination de photomètres ou spectrophotomètres à *faisceaux juxtaposés*. Tel est le principe des appareils employés par Bouguer, Foucault, Becquerel, Crova, Zoellner, Wolf, Glan, Vierordt, Hüfner, et appliqué par ces savants à l'étude de diverses questions de photométrie ou de spectrophotométrie.

Dans la seconde méthode, les deux faisceaux lumineux à comparer, après avoir été polarisés à angle droit, empiètent l'un sur l'autre, et la partie commune est reçue sur un polariscope. L'œil est averti alors de l'égalité des deux faisceaux par le phénomène de la disparition des franges complémentaires dans la partie

(1) C'est ainsi que récemment Mörner s'est servi de cette méthode pour étudier les matières colorantes, encore si mal définies, des tumeurs mélaniques (*Zur Kenntniss von den Farbstoffen der melanotischen Geschwülste*, in *Zeitsch. f. physiol. Chemie*, t. XI, p. 66. — Voyez également : Vierordt, *Die Quantitative Spectralanalyse in ihrer Anwendung auf Physiologie*, etc., Tübingen, 1876, et Lambling, *Arch. de physiol.*, 1888.

(2) Voyez à ce sujet : Trannin, *Mesures photométriques*, in *Journ. de phys.*, 1876, t. V, p. 297, et *Thèse de la Faculté des sciences*, Lille, 1877. — Crova, *Études des radiations, etc.*, in *Ann. de chim. et de phys.*, (5), 1880, t. XIX, p. 472, et *Description d'un spectrophotomètre*, *Ibid.*, (5), 1883, t. XXIX, p. 556. — Branly, *Dosage de l'hémoglobine par les procédés optiques*, *Ibid.*, (5), 1882, t. XXVII, p. 239.

commune. Ces photomètres sont dits *à faisceaux superposés.* Sur ce principe sont fondés les appareils (photomètres ou spectrophotomètres) de Jamin, Wild, Crookes, Trannin, Branly.....

Il n'entre pas dans le plan de cet ouvrage de faire ici une description complète de tous ces instruments, d'autant plus que les pièces essentielles varient fort peu dans la plupart d'entre eux. Nous nous contenterons donc de choisir un ou deux types dans les deux grandes classes que nous venons d'établir. Nous insisterons surtout sur les appareils de Vierordt, de Hüfner et de Branly, les seuls qui aient servi jusqu'à présent à des recherches de chimie biologique.

A. Spectrophotomètres à faisceaux juxtaposés.

Le plus simple des appareils de ce genre est le spectrophotomètre *à fentes variables* de Vierordt (1). Cet appareil repose sur ce principe que l'intensité lumineuse d'une région spectrale est proportionnelle à la largeur de la fente.

Il diffère essentiellement d'un spectroscope ordinaire, à trois branches, par une disposition spéciale de la fente du collimateur, qui est limitée, d'une part par une pièce fixe A (voy. fig. 7), de l'autre par deux plaques mobiles B et C, mues chacunes par une vis micrométrique. Ces vis, dont le pas est de 0^{mm},2, portent l'une et l'autre un tambour t, t' dont la circonférence est divisée en cent parties égales et qui permet d'apprécier, par conséquent, le 1/500 de millimètre. La fente ab du spectroscope se trouve donc partagée en deux moitiés superposées ab, ac, indépendantes l'une de l'autre, et dont la largeur peut être lue sur les tambours gradués sans que l'observateur soit obligé de quitter l'oculaire. Ces deux demi-fentes donnent dans le spectroscope deux spectres superposés, dont les intensités peuvent être modifiées à volonté. D'autre part, afin qu'on puisse examiner isolément une région restreinte des deux spectres, le plan focal de l'oculaire est occupé par deux écrans mobiles qui pénètrent de chaque côté dans la lunette et dont les bords, nettement taillés en biseau, permettent de découper une bande lumineuse verticale dans des régions correspondantes des deux spectres.

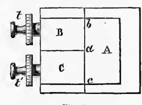


Fig. 7.

Enfin le micromètre est remplacé dans cet appareil par une petite fente rectangulaire mobile à l'aide d'une alidade qui joue sur un arc gradué. Lorsqu'on éclaire cette fente, son image se projette dans le spectre sous forme d'une bande lumineuse rectangulaire que l'on peut promener dans tout le champ en faisant aller et venir l'alidade. C'est à l'aide de cette image que l'on repère, une fois pour toutes, les lignes Fraunhofer. Pour cela, on fait tomber sur la fente du collimateur un faisceau de rayons solaires, et on détermine à quel degré de l'arc gradué correspond l'alidade, lorsqu'un des bords, le bord droit par exemple, de l'image de la petite petite fente, coïncide avec une raie de Fraunhofer. On repère ainsi successivement les raies les plus importantes. Je suppose maintenant qu'on veuille découper dans le spectre une bande lumi-

(1) Vierordt, *Die quant. Spectralanalyse*, etc... Tübingen, 1876.

neuse allant de D 11 E à D 50 E. On sait que D correspond, je suppose, à la division 25,2, et E à la division 22,2 de l'arc gradué. Une simple proportion fait trouver que D 11 E correspond à 24,9. On fait alors coïncider l'alidade avec la division 24,9 et, éclairant la petite fente, on fait glisser l'écran de gauche jusqu'à ce que son bord coïncide avec celui de l'image. On repère d'une façon analogue la région D 50 E.

On commence ordinairement par donner aux deux fentes une largeur correspondant à un tour complet de la vis, c'est-à-dire à 100 divisions du tambour, et on les éclaire à l'aide d'une lampe à pétrole que l'on dispose de telle façon que les deux spectres paraissent également lumineux. D'autre part, on isole à l'aide des écrans la région spectrale qu'on veut étudier. Si, maintenant, on place devant l'une des fentes une solution colorée, on modifie le spectre correspondant à cette fente, et, pour apprécier l'intensité lumineuse restante de la plage étudiée, il suffit de rétrécir la fente, demeurée libre, jusqu'à ce que la plage spectrale que fournit cette fente soit égale en intensité à la plage correspondante du spectre affaibli par l'absorption. Si les deux fentes avaient d'abord une largeur égale à 100, et si la fente libre a été réduite à 0,30, il est clair que l'intensité de la lumière transmise par la substance absorbante est elle-même les 0,30 de la lumière incidente. Soit e l'épaisseur de la couche observée ; il vient :

$$\varepsilon = -\frac{\log 0{,}30}{e}.$$

Pour étudier le pouvoir absorbant des liquides, Vierordt se sert de cuves spéciales imaginées par Schultz (1), et que Hüfner et ses élèves ont également adoptées. Ces cuves sont constituées par de petits vases en verre, à faces parallèles, dont le fond est occupé par un cube en flint complètement noyé dans le liquide à analyser. La cuve est disposée devant la fente de l'appareil, de telle sorte que la face supérieure du cube soit bien horizontale et que l'image qu'elle produit dans le spectre sous forme d'une ligne obscure coïncide avec la limite de séparation des deux spectres. Cette limite peut être rendue fort nette, en donnant aux deux fentes un écartement notablement différent. Les deux spectres, d'inégale intensité, sont alors séparés par une ligne foncée, très fine, qui apparaît avec une grande netteté.

C'est avec cette ligne qu'il faut faire coïncider la mince bande obscure qui représente l'image des arêtes de la face supérieure du cube. A cet effet, le support sur lequel est installée la solution porte un plateau auquel on peut imprimer, au moyen d'une vis, des mouvements très lents dans le sens vertical. Les parois de la cuve doivent présenter un écartement de 11 millimètres. L'épaisseur du cube étant de 10 millimètres, il en résulte que l'un des spectres correspond à une épaisseur de 1 millimètre, l'autre à une épaisseur de 11 millimètres de la solution colorée.

Tout se passe donc comme si l'un des spectres était produit directement par la solution lumineuse, l'autre après passage à travers une solution colorée de 10 millimètres d'épaisseur (2). Lorsque la cuve en question est remplie d'eau

(1) Vierordt, *Die quant. Spectralanalyse*, etc... Tübingen, 1876, p. 116.

(2) Les dimensions de la cuve et du flint ne sont pas toujours exactement celles que l'on vient

distillée, les deux spectres doivent avoir exactement la même intensité lumineuse pour la même largeur des deux fentes. Si l'un des spectres paraît plus éclairé, c'est que la source lumineuse n'occupe pas une position convenable, ce qui fait que l'éclairement des deux fentes n'est pas identique. — On emploie avantageusement comme source lumineuse une lampe à pétrole munie d'une mèche plate de 2 centimètres de large, mieux encore d'une mèche ronde de 18 à 20 millimètres de diamètre, et que l'on place à 15 centimètres environ de la fente, de telle façon que le bord supérieur de la mèche soit un peu au-dessous du prolongement de l'axe du collimateur.

Lorsque le pouvoir absorbant de la solution est très considérable, il devient difficile de mesurer avec exactitude l'intensité lumineuse restante, à cause du trop faible éclairement des plages étudiées. On peut, à la vérité, remédier en partie à cet inconvénient en augmentant l'intensité du faisceau incident, c'est-à-dire en donnant primitivement aux deux fentes une largeur plus grande. Mais alors, tandis que l'une des fentes doit être rétrécie considérablement, l'autre reste très large et le spectre qui lui correspond devient, par rapport à l'autre, très impur, par suite de la superposition de radiations de réfrangibilité différentes en un même point du spectre. Il se produit alors une notable différence de ton dans la couleur des deux surfaces à comparer. De là le conseil donné par Vierordt, de ne jamais réduire la largeur de la fente au delà du 1/10 de sa valeur primitive. La difficulté peut être tournée en produisant en partie l'affaiblissement du spectre pur, au moyen de verres fumés dont on a mesuré à l'avance le pouvoir absorbant pour chaque région spectrale. Un faible rétrécissement de la fente suffit alors pour amener l'égalité entre les deux plages. L'emploi des verres fumés est gênant; mais, le plus souvent, on peut éviter de s'en servir, en diluant convenablement les liquides à analyser.

Enfin, il faut signaler encore quelques précautions spéciales dont dépend en grande partie l'exactitude des déterminations.

Il est indispensable que les bords des écrans restent parallèles aux raies de Fraunhofer, ou, ce qui revient au même, aux bords de la fente du spectroscope. Si cette condition n'est pas remplie, les régions spectrales observées ne se correspondent pas exactement dans les deux spectres; et comme l'absorption lumineuse varie souvent très rapidement d'une région à l'autre, il peut en résulter des erreurs grossières dans la détermination de l'intensité lumineuse restante. Or, les pièces dont l'ensemble délimite la fente du spectroscope doivent, d'une part, être séparées de temps en temps de l'appareil, dans le but de

d'indiquer. Il est donc nécessaire de les vérifier à l'aide d'un bon sphéromètre, et de calculer, s'il y a lieu, le chiffre par lequel il faut multiplier le coefficient d'extinction pour corriger l'erreur.

Voici, par exemple, les dimensions trouvées pour deux cuves et leurs cubes en flint :

Écartement des parois.	Épaisseur du flint.	Épaisseur du liquide inférieur.	Épaisseur active.	Coefficient de correction.
11mm,442	10mm,069	1mm,373	10mm,069	0,993
22 ,138	20 ,009	2 ,1296	20 ,009	0,999

L'épaisseur active était, par suite, de 10mm,069 et 20mm,009 au lieu de 10 et 20 millimètres. L'écart est donc faible pour la première cuve et tout à fait négligeable pour la seconde. (Lambling, *Des procédés de dosage de l'hémoglobine*, *Thèse*, Nancy, 1882.)

débarrasser les bords de la fente des poussières qui s'y accumulent très rapidement. D'autre part, la lunette oculaire qui porte les écrans, est également mobile autour de son axe ; il faut donc s'assurer soigneusement avant chaque série d'expériences que les bords des écrans sont bien parallèles à une raie de Fraunhofer ou à la raie D fournie par la flamme de sodium.

En outre, il est bon de vérifier de temps en temps, à l'aide du microscope, l'intégrité des vis micrométriques qui servent à mesurer les intensités lumineuses, en s'assurant qu'à une même indication des deux tambours correspond réellement une égale largeur des deux fentes. Les liquides examinés doivent être absolument limpides, ainsi que les parois de la petite cuve et le cube en flint. Il est bon enfin de choisir un éclairement tel que les intensités lumineuses ne soient pas trop fortes. L'œil de l'observateur doit être placé bien en face de l'oculaire, de telle façon qu'il aperçoive une égale hauteur des deux plages, et la comparaison doit se faire rapidement en évitant de fixer trop longtemps le champ lumineux.

L'appareil de Vierordt est, comme on le voit, fort simple. Sa construction et son réglage ne présentent aucune difficulté sérieuse. Il donne plus de clarté dans le violet et le bleu que les appareils basés sur l'application des lois de la lumière polarisée, appareils dont la description va suivre. Il comporte, il est vrai, théoriquement une cause d'erreur, à laquelle on a fait allusion plus haut, c'est que le spectre correspondant à la fente la plus large est moins pur que l'autre. Pratiquement, cette erreur n'a que peu d'influence, si la largeur des fentes n'est pas très différente.

Elle est diminuée encore si l'on fait usage d'une fente à rétrécissement bilatéral, c'est-à-dire construite de telle façon que, sous l'action de la vis micrométrique, les deux lames métalliques qui limitent la fente se déplacent simultanément l'une vers l'autre, pour se rejoindre exactement dans le plan vertical passant par l'axe du collimateur. Cette modification apportée, il y a quelques années, au spectroscope de Vierordt est très avantageuse.

La comparaison des deux plages lumineuses se fait avec une erreur qui est environ de 1/60, mais qui peut s'abaisser jusqu'à 1/70 ou 1/80 lorsque les conditions de l'observation sont favorables. L'erreur est d'autant plus faible que la juxtaposition des deux plages est plus exacte, c'est-à-dire que la ligne obscure qui sépare les deux champs est plus fine. Or, la face supérieure du cube en flint produit toujours dans le champ une image, sous forme de ligne obscure, qui gêne un peu la comparaison des deux champs et qui fait que l'erreur d'une détermination isolée oscille entre 1/50 et 1/60.

Hüfner (1), à qui l'on doit une série de recherches si intéressantes sur la spectrophotométrie du sang, a essayé de modifier l'appareil de Vierordt en imaginant un dispositif qui permît d'affaiblir l'intensité lumineuse de l'un des spectres sans altérer en aucune façon la pureté des couleurs. L'appareil de Hüfner est fondé sur l'emploi de la lumière polarisée dont l'affaiblissement peut s'obtenir, dans une proportion à chaque instant connue, par la rotation

(1) Hüfner, *Ueber quantitative Spectralanalyse und ein neues Spectrophotometer*, in *Journ. f. prakt. Chem.*, t. XVI, 1877. — Le même, *Repertorium f. Experimentalphysik;* t. XV, p. 116-118. — Voy. aussi : v. Noorden, *Zeitsch. f. physiol. Chemie*, t. IV, p. 9.

d'un nicol. A cet effet, l'une des moitiés de la fente reçoit, par l'intermédiaire d'un prisme à double réflexion totale, un faisceau de lumière préalablement polarisé à l'aide d'un nicol, l'autre moitié reçoit le faisceau de lumière naturelle modifié par l'effet absorbant de la solution. Entre le collimateur et le prisme est installé, sur le trajet du faisceau polarisé, un nicol mobile, dont la rotation peut être lue sur un cercle divisé. Le spectroscope est à vision directe et l'orientation dans le spectre se fait à l'aide des deux écrans mobiles de Vierordt qui se meuvent horizontalement dans le plan focal de la lunette. On utilise dans ce but la partie des deux écrans qui fait saillie, de chaque côté de la lunette. C'est cette partie extérieure de chaque écran et la coulisse, dans laquelle glissent ces écrans, qui portent une graduation spéciale, servant à repérer une fois pour toutes les lignes de Fraunhofer, et ensuite, dans chaque expérience, la région qu'on veut observer.

On comprend qu'il faille, avant chaque série d'expériences, établir l'égalité d'intensité entre le faisceau de lumière naturelle et le faisceau polarisé, ce dernier étant affaibli par le fait de la polarisation et des réflexions qu'il a subies. A cet effet, on a disposé, en avant de la fente, sur le trajet du faisceau de lumière naturelle, un prisme compensateur, mobile devant la fente à l'aide d'une vis. Ce prisme se compose d'une lame en verre, d'épaisseur uniforme, constituée par l'accolement de deux prismes à angle très aigu, l'un en verre fumé, l'autre en flint. Il est bon de faire remarquer ici que le verre fumé n'est jamais complètement incolore et qu'il absorbe par suite inégalement les diverses couleurs du spectre. De là, la nécessité d'amener devant la fente des épaisseurs variables de verre fumé, selon la région spectrale que l'on observe. — Il n'est, du reste, pas nécessaire du tout de connaître le pouvoir absorbant des diverses parties de ce prisme, qui n'a absolument rien de commun avec les verres fumés de Vierordt.

L'emploi de l'appareil est fort simple. On isole d'abord à l'aide des écrans la région spectrale que l'on doit observer; puis le nicol mobile étant au zéro, c'est-à-dire sa section principale coïncidant avec celle du nicol fixe, on donne aux deux plages spectrales que l'on va observer un égal éclairement à l'aide du prisme compensateur. La cuve de Schultz, contenant la solution colorée, est ensuite disposée devant la fente, de telle façon que le faisceau lumineux, qui traverse le cube, tombe sur le nicol, tandis que le faisceau lumineux, affaibli par l'épaisseur de liquide sus-jacent au cube, pénètre par la fente libre. Il se produit ainsi dans l'appareil deux spectres superposés, l'un modifié par le milieu coloré, l'autre, plus lumineux, produit par le faisceau polarisé. On tourne alors le nicol mobile jusqu'à ce que les deux plages juxtaposées soient d'égale intensité. Soit α l'angle de rotation du nicol; l'intensité lumineuse restante sera :

$$I' = \cos^2 \alpha,$$

Le coefficient d'extinction se calcule ensuite aisément. Si l'épaisseur du liquide observé est de 1 centimètre, et l'angle α égal à 55°49', il viendra par exemple :

$$\begin{aligned} \varepsilon &= - \log I'. \\ &= - 2 \log \cos 55°49'. \\ &= 0{,}50077. \end{aligned}$$

Remarquons encore qu'avec cet appareil, l'installation de la cuve devant la fente est singulièrement facilitée. On sait combien il est important, dans l'appareil Vierordt, de faire coïncider exactement avec la ligne de séparation des deux spectres, la petite bande obscure que projette dans le spectre la face supérieure du cube en flint. Ici, au contraire, on a un certain jeu dans l'installation de la cuve qui peut se trouver indifféremment un peu plus haut ou plus bas. Il suffit, en effet, qu'un faisceau lumineux assez large, ayant traversé horizontalement le cube, à une distance d'ailleurs quelconque de la surface de celui-ci, soit recueilli par le nicol pour être renvoyé ensuite dans le collimateur par le prisme à réflexion totale. En d'autres termes, les deux faisceaux ne sont pas, comme dans l'appareil de Vierordt, juxtaposés pendant tout leur trajet, mais seulement au moment précis de leur entrée dans le collimateur. Il en résulte que la séparation des deux spectres est marquée par une ligne très fine qui est produite par l'une des arêtes du prisme à réflexion totale, et qui s'efface presque totalement lorsque l'égalité des deux plages est atteinte.

Cette circonstance qui facilite considérablement les observations, jointe à la pureté des spectres obtenus, font de l'appareil de Hüfner un instrument à la fois plus exact et plus commode que celui de Vierordt. L'égalité d'éclairement des deux régions spectrales s'apprécie avec une approximation de 1/70 et même de 1/80.

Le spectrophotomètre de M. Crova, signalé plus haut, est fondé sur un principe analogue (1).

On a construit encore d'autres spectrophotomètres à faisceaux juxtaposés, mais basés sur un principe un peu différent, à savoir l'égalité d'intensité des deux faisceaux polarisés à angle droit. Tel est, par exemple, l'appareil de Glan.

Le spectrophotomètre de Glan (2) comprend un spectroscope, c'est-à-dire un collimateur, un prisme et une lunette; entre la lentille du collimateur et le prisme sont intercalées les pièces du photomètre, à savoir un prisme biréfringent qui est ici un prisme de Wollaston, puis un nicol. La rotation du nicol permet d'amener ces deux images à égalité d'éclat. Le nicol produit donc ici le même effet que la fente variable de Vierordt.

La fente verticale du collimateur est divisée en deux par une bande horizontale de laiton noirci. La lumière qui vient de chaque demi-fente est dédoublée par le prisme de Wollaston en deux faisceaux polarisés à angle droit. Les deux images de chaque demi-fente sont déviées en sens contraires, et verticalement, car l'angle réfringent du prisme est horizontal. Il en résulte que l'image totale de la fente se compose de quatre images partielles f_1, f_1', f_2, f'_2, disposées l'une au-dessus de l'autre, une image ordinaire alternant avec une image extraordinaire. Dans la partie moyenne de cette image totale, une image f_2 de la fente supérieure est contiguë à une image f'_1, de nom contraire, de la fente inférieure; ces deux images sont polarisées à angle droit. Ce sont là les deux seules images utiles, puisqu'on s'arrange de façon à masquer les deux autres. Les deux faisceaux

(1) A. Crova, *Description d'un spectrophotomètre*, in *Ann. de chim. et de phys.*, (5), 1883, t. XXIX, p. 556.

(2) Voyez : Branly, *Dosage de l'hémoglobine du sang par les procédés optiques*, in *Ann. de chim. et de phys.*, (5), t. XXVII, p. 246, et H.-W. Vogel, *Prakt. Spectralanalyse irdischer Stoffe*, Nördlingen, 1877, p. 345.

correspondant aux deux images utiles traversent ensuite le nicol N (fig. 8) et prennent alors un éclat relatif, qui dépend de l'angle que la section principale du nicol fait avec la section principale du wollaston W. Au sortir du nicol, les faisceaux tombent sur un prisme P, qui les étale en spectre. Les couleurs de même réfrangibilité se correspondent sur une même verticale, car on a eu soin de tourner le wollaston jusqu'à ce que les raies de Fraunhofer fussent en prolongement dans les deux spectres. Ces spectres sont observés avec une lunette astronomique. Dans le plan focal de l'oculaire sont disposées deux plaques noircies servant à isoler une région déterminée des deux spectres.

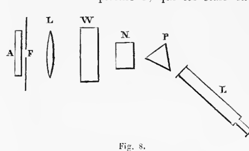


Fig. 8.

Supposons les deux demi-fentes également éclairées, et admettons que l'affaiblissement dû aux absorptions et aux réflexions par les pièces de l'appareil soit le même pour les deux faisceaux. Il est évident que lorsque le nicol est à 45° de la section principale du wollaston, les deux spectres ont la même intensité 1. Si maintenant on tourne le nicol de 45° dans un sens ou dans l'autre, on éteint soit l'un soit l'autre des deux spectres. Enfin en plaçant une substance absorbante devant l'une des fentes, l'intensité de la lumière qui en émane est diminuée et devient I'; pour rétablir l'égalité d'éclat, il faut donner une nouvelle position au nicol. Soit α l'angle de rotation du nicol (supérieur à 45°) compté à partir de la position du nicol pour laquelle l'un des deux spectres est éteint; il vient alors :

$$I' \sin^2 \alpha = I \cos^2 \alpha,$$

d'où :

$$I' = I \cot^2 \alpha\,;$$

ou, en posant, comme précédemment, $I = 1$:

$$I' = \cot^2 \alpha.$$

Telle est la valeur de l'intensité lumineuse restante. On sait comment on en déduit le coefficient d'extinction (1).

B. Spectrophotomètres à faisceaux superposés.

Au lieu de juxtaposer les deux faisceaux polarisés à angle droit, que l'on doit comparer entre eux, on peut les superposer en partie. Il suffit alors d'examiner la partie commune avec un polariscope. On constate que l'égalité des deux faisceaux est atteinte par la disparition des franges dans cette partie commune. — Nous choisirons comme type de cette catégorie d'instruments celui que M. Branly (2) a appliqué au dosage de l'oxyhémoglobine du sang et dont nous empruntons la description au mémoire de l'auteur.

(1) Pour les détails du réglage et des conditions de sensibilité de l'appareil de Glan, voyez les mémoires spéciaux cités plus haut.

(2) Branly, *loc. cit.*, p. 251.

Le spectrophotomètre de M. Branly est composé de pièces indépendantes les unes des autres, supportées par des pieds à mouvement qui pouvaient glisser sur un banc d'optique.

La source lumineuse était une lampe Drummond, placée dans une lanterne de projection. Un jet de gaz d'éclairage et un jet d'oxygène étaient dirigés sur un prisme de chaux (ou mieux de magnésie) à faces planes ; on retournait le bâton de chaux toutes les heures, car, dès qu'il avait commencé à se creuser, l'éclairement cessait d'être égal sur toute la hauteur de la fente. La pression du gaz et celle de l'oxygène était maintenue constante par un aide (pression de l'oxygène égale à $0^m,50$ d'eau). Les rayons parallèles transmis par la lentille de la lanterne tombaient sur une fente verticale dont l'un des bords pouvait être déplacé au moyen d'une vis de très petit pas ; cette fente était limitée dans sa hauteur à 7 millimètres. On pouvait lui attribuer une largeur variable suivant la région que l'on étudiait spécialement ; très fine pour l'étude de la région jaune et de la région verte, elle était rendue plus large pour l'observation du bleu et du violet. A $0^m,50$ de la fente était placée la lentille du collimateur ; puis, en avant du prisme P et de la lunette qui complétaient le spectroscope, étaient intercalées les pièces essentielles du photomètre : un nicol N centré dans une bonnette cylindrique et muni d'une division en degrés qui mesurait sa rotation, un wollaston W à arête réfringente horizontale, un polariscope formé d'une lame de quartz Q, de 6 millimètres, parallèle à l'axe et d'un nicol N' à faces normales (fig. 9).

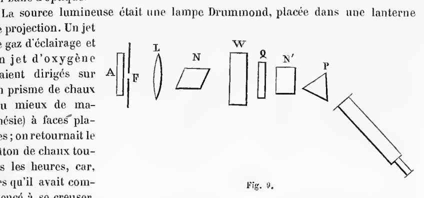
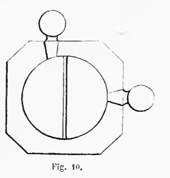


Fig. 9.

On faisait usage d'une auge à faces parallèles, divisée en deux compartiments par une cloison horizontale (fig. 10), qui produisait le même effet que la bande horizontale de laiton noirci de l'appareil de Glan. Le wollaston donnait deux images de chacune des moitiés de la fente ; son dédoublement était tel que l'image ordinaire de l'une des demi-fentes et l'image extraordinaire de l'autre demi-fente se superposaient en partie. Ces deux images superposées, polarisées à angle droit, tombaient sur le polariscope. Le passage des quatre faisceaux à travers le prisme donnait quatre spectres cannelés dont deux se recouvraient partiellement. Dans ces deux derniers spectres les franges alternaient ; elles disparaissaient dans une des plages de la partie commune, lorsque l'égalité était obtenue pour cette plage.


Fig. 10.

Quand les deux compartiments de l'auge cloisonnée renferment la même solution colorée, les franges disparaissent dans toute l'étendue de la partie commune aux deux spectres, si l'on supprime le nicol antérieur; si, au contraire, le nicol est placé, il faut orienter sa section principale à 45° de la section principale du wollaston, pour produire la disparition des franges. — Introduisons des solutions différentes dans les deux compartiments : aussitôt les franges apparaissent; mais, par une rotation convenable du nicol antérieur, on les fait disparaître dans telle ou telle région du spectre.

Si l'on introduit de l'eau dans le compartiment inférieur de la cuve et la solution colorée dans le compartiment supérieur, les franges apparaissent dans toute l'étendue du spectre commun. On tourne le nicol antérieur d'un angle α et les franges s'évanouissent dans une région limitée du spectre.

Le calcul est le même que pour le spectrophotomètre de Glan. Si l'on pose comme précédemment, égale à l'unité, l'intensité de la lumière transmise à travers l'eau, l'intensité lumineuse I', transmise à travers la solution colorée, sera :

$$I' = \cot^2 \alpha,$$

α étant, comme dans l'appareil de Glan, l'angle supérieur à 45°.

La supériorité de ce spectrophotomètre à faisceaux superperposés tient à ce qu'il fournit pour l'angle de rotation du nicol deux limites entre lesquelles cet angle est nécessairement compris. Avant que les franges aient disparu dans la partie commune, elles sont en prolongement des franges de l'un des deux spectres partiellement superposés; quand, après avoir disparu, elles réapparaissent à la suite d'une rotation trop forte du nicol, elles se trouvent en prolongement des franges du second spectre. Il y avait alors dans la partie commune excès de lumière dû, pour le premier cas, à la lumière transmise par l'un des compartiments de la cuve, et, pour le deuxième cas, à la lumière transmise par l'autre compartiment. La position qu'il fallait donner au nicol pour produire l'effacement des franges était compris entre les deux positions correspondant à une faible apparition des deux systèmes de franges dans la partie commune.

Pour régler l'appareil, on commence par supprimer le nicol antérieur; on éclaire la fente à l'aide d'un bec Bunsen chargé de sel marin, et on tourne le wollaston de manière à amener en prolongement les raies D des deux spectres de la fente. On éclaire alors de nouveau avec la lampe Drummond et on oriente le quartz et le nicol du polariscope de façon à obtenir des franges ayant le maximum d'éclat (quartz à 45°); on met les franges au point avec la lunette. Une vis tangente qui commande les mouvements lents du wollaston donne le moyen de le faire tourner légèrement afin de produire l'entier effacement des franges dans la partie commune des deux spectres. Si les franges ne disparaissent pas, cela tient à ce que la fente n'est pas également éclairée dans toute sa hauteur. En faisant mouvoir verticalement la source lumineuse, on obtient la disparition complète. C'est alors seulement que l'on place le nicol antérieur, et si on le tourne pour obtenir de nouveau la disparition des franges, on voit que sa section principale doit être à 45° de celle du wollaston.

Le zéro du nicol, c'est-à-dire la direction à partir de laquelle les angles de rotation doivent être comptés, s'obtient en éteignant l'un des spectres. Il vaut

mieux viser directement la fente fortement éclairée et tourner le nicol de façon à éteindre l'une des images. Les quatre positions d'extinction sont à 90° l'une de l'autre; il en est de même des quatre positions du nicol qui correspondent à la disparition des franges dans la partie commune. Avant d'opérer, on doit s'assurer que ces conditions sont remplies. — Pour chaque mesure, l'angle cherché peut se déduire de quatre lectures; les positions du repère entraîné par le nicol sont sur les extrémités des deux diamètres de la circonférence graduée. L'angle α, noté dans la comparaison avec l'eau, est l'angle supérieur à 45°.

Un appareil à faisceaux polarisés à angle droit et superposés, un peu différent de celui de M. Branly, a été construit par M. Trannin (1).

C. Exactitude de la méthode spectrophotométrique.

Le degré d'exactitude que comporte cette méthode dépend : 1° de l'exactitude avec laquelle on peut déterminer d'abord la constante A de la substance à doser et ensuite le coefficient d'extinction de la solution à analyser; 2° du degré de précision que l'on atteint dans la préparation des liquides colorés (mensuration et dilution des liquides). — Examinons successivement ces deux points.

Les appareils qui ont été étudiés avec le plus de soin au point de vue des causes d'erreur que comporte leur usage sont ceux de Vierordt et Hüfner. Ce sont, comme on l'a vu, des spectrophotomètres à faisceaux juxtaposés. Les appareils de ce genre permettent, en général, d'apprécier l'égalité d'intensité de deux plages avec une approximation qui varie de $\frac{1}{50}$ à $\frac{1}{100}$. C'est dans la région du jaune que la sensibilité est maxima. Elle diminue beaucoup dans le violet, surtout pour les appareils à vision directe (2). L'intensité absolue des lumières à comparer semble avoir moins d'influence. Elle doit être choisie telle que l'œil puisse supporter ses examens réitérés sans trop de fatigue. Il semble d'ailleurs qu'il y ait pour chaque couleur spectrale une valeur absolue des intensités observées pour lesquelles la sensibilité est maxima.

Mais admettons que l'approximation moyenne de l'observation photométrique soit de $\frac{1}{80}$. Ce renseignement suffit-il pour calculer l'erreur maxima que comportera l'examen d'une solution colorée quelconque par voie spectrophotométrique? Il n'en est rien. Et d'abord on conçoit aisément que les solutions plus concentrées, c'est-à-dire exerçant un effet absorbant plus énergique, se prêtent à des déterminations photométriques plus exactes. En effet, Vierordt a montré expérimentalement que les plus petites différences relatives de concentrations encore revélées par le spectrophotomètre sont en raison inverse des concentrations. En outre, à concentrations égales, les matières colorantes exercent des effets absorbants d'une intensité très variable, ce qui revient à dire que leur spectre est plus ou moins favorable à des déterminations quantitatives exactes. Enfin, la préparation des liqueurs titrées des diverses matières colorantes, opération indispensable pour la détermination de la constante d'absorption A, comporte également une exactitude variable selon l'altérabilité de la substance, les conditions de sa préparation à l'état de pureté, etc...

(1) Trannin, *Mesures photométriques*, in *Journ. de phys.*, 1876, t. V, p. 297.

(2) Voir Crova : *Ann. de Chim. et de Phys.*, 5e série, t. XXIX, 1883, p. 557.

Pour toutes ces raisons, il convient d'étudier la valeur de la méthode dans chaque cas particulier, c'est-à-dire pour chaque substance et pour des concentrations variant dans des limites assez étendues pour comprendre les cas que présente pratiquement le dosage de la substance en question.

Une telle étude a été faite avec beaucoup de soin pour l'oxyhémoglobine, par Hüfner (1) et ses élèves. Le dosage de cette matière colorante, qui représente l'application la plus importante de la méthode spectrophotométrique à la chimie biologique, est, par la nature des difficultés qu'il présente, un exemple bien choisi pour montrer ce que vaut pour le chimiste biologiste la méthode en question. Or J. Otto (2), qui a repris récemment cette question, a fixé, par une série de déterminations (3), les valeurs des rapports d'absorption A_0 et A'_0 de l'oxyhémoglobine dans deux régions spectrales et a montré que ces grandeurs qui sont

Pour A_0. 0,001880
— A'_0. 0,001403

ne sont entachées que d'une erreur moyenne de $\pm$ 0,64 p. 100 pour A_0 et de $\pm$ 0,92 p. 100 pour A'_0 (4). Ces résultats ont été obtenus avec un spectrophotomètre de Hüfner légèrement modifié. Avec celui de Vierordt, les résultats sont moins bons, bien qu'ils restent très supérieurs à ceux que fournissent les autres méthodes de dosage de l'hémoglobine. On peut donc affirmer que les constantes en question sont déterminées avec une exactitude très suffisante, et par conséquent aussi que la fixation du coefficient d'extinction des solutions colorées est susceptible d'une très grande précision. Enfin, si on veut apporter un soin très minutieux à la dilution des liquides colorés que l'on doit opérer à l'aide de pipettes très exactement jaugées à l'aide du mercure, on arrive à des résultats entachés d'une erreur qui est d'environ 1 gramme à 1gr,20 pour 100 grammes d'hémoglobine. Sur les 14 grammes d'hémoglobine que contiennent en général, chez l'homme, 100cc de sang, on commettra donc, avec l'appareil de Hüfner, une erreur moyenne de 0gr,14 à 0gr,16 (5).

Les appareils à faisceaux juxtaposés, ou tout au moins celui de Vierordt et surtout celui de Hüfner, conduisent donc à des résultats remarquables, bien

(1) Hüfner, *Journ. f. prakt. Chem.*, t. XVI, 1877, p. 291, et v. Noorden, *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, t. IV, 1880, p. 8.

(2) J. Otto, *Arch. f. d. gesamt. Physiol.*, t. XXXVI, 1885, p. 12.

(3) Voy. p. 14 et p. 169.

(4) Si l'on veut appliquer rigoureusement les règles du calcul des probabilités, on arrive même à ce résultat que l'*erreur probable* n'est pour A_0 que de 0,21 p. 100, et pour A'_0 de 0,24 p. 100. (Otto, *loc. cit.*)

(5) Si l'on veut se rendre compte de l'importance que la méthode spectrophotométrique a prise dans ces dernières années dans les études biologiques, il suffit de se reporter aux nombreux mémoires publiés notamment par Hüfner et ses élèves (Hüfner, *Journ. f. prakt. Chem.*, t. XVI, 1877, p. 291; t. XXII, p. 362, 1880, et *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, t. I, p. 390, 1877; t. III, p. 1 et t. VI, p. 94. — Otto, *Ibid.*, t. VII, p. 57. — Branly, *Thèse*, Paris, 1882. — Lambling, *Thèse*, Nancy, 1882. — Hüfner et Otto, *Ibid.*, t. VII, p. 65. — Hüfner et Külz, *Journ. f. prakt. Chem.*, t. XXVIII, p. 256, et *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, t. VII, p. 366. — J. Otto, *Pflüger's Archiv*, t. XXXI, p. 240 et p. 245. — J. Marschall, *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, t. VII, p. 81. — Külz, *Ibid*, t. VII, p. 384. — Hüfner, *Ibid.*, t. VIII, p. 358 et p. 366. — Le même, *Journ. f. prakt. Chem., nouvelle série*, t. XXX, p. 69, etc...). — Lambling, *Arch. de Physiol.* 1888

qu'ils ne permettent d'apprécier l'égalité d'éclairement de deux plages qu'avec une approximation variant de $\frac{1}{50}$ à $\frac{1}{100}$. Les appareils à faisceaux superposés donnent une approximation qui irait, d'après Crova, de $\frac{1}{500}$ à $\frac{1}{1000}$. Ces appareils, qui ont à la vérité l'inconvénient de fatiguer beaucoup la rétine, pourraient donc, au point de vue de l'analyse quantitative, donner des résultats encore plus satisfaisants que celui de Hüfner. Leur étude à ce point de vue n'est pas encore complète.

Il importe de faire remarquer en terminant que la valeur des rapports d'absorption A, des diverses matières colorantes, varie d'une manière assez notable, selon que l'on emploie l'un ou l'autre des instruments décrits ci-dessus. La raison de ces variations nous échappe encore totalement. Il est par suite indispensable de déterminer, une fois pour toutes et pour l'appareil dont on dispose le rapport d'absorption des diverses matières colorantes que l'on veut étudier. Sous cette réserve, les résultats fournis par les divers instruments sont rigoureusement comparables.

CHAPITRE II.

POLARISATION ROTATOIRE.

Les composés inorganiques liquides ou en solution n'ont pas d'action sur la lumière polarisée, mais il n'en est pas de même pour les composés organiques. Parmi ceux de ces derniers que l'on trouve dans l'économie animale, il n'en existe qu'un petit nombre, à molécule relativement simple, qui dévient le plan de polarisation, tandis que beaucoup d'autres, à poids moléculaire élevé, tels que les matières albuminoïdes, les sucres, etc., possèdent la polarisation rotatoire.

L'action de ces substances sur la lumière polarisée est fréquemment utilisée par le chimiste; elle lui permet non seulement de les différencier quand elles se trouvent dissoutes dans des conditions déterminées au point de vue du milieu, de la densité, etc., mais encore d'en préciser la nature. Cette méthode optique de recherches présente, en outre, sur les autres méthodes analytiques, cet immense avantage de pouvoir servir à une détermination quantitative aussi exacte que rapide, sans altérer la composition du liquide qui peut être réservé pour des opérations ultérieures.

L'examen polarimétrique ne se fait qu'avec des solutions limpides et aussi incolores que possible. Il est vrai qu'une teinte légèrement jaunâtre nuit peu à l'examen, mais les colorations rougeâtres et brunâtres ne peuvent servir en aucun cas. Lorsqu'il s'agit de procéder à une observation, on introduit le liquide décoloré dans des tubes cylindriques en métal de 5, 10, 20, 50 centimètres de long, fermés aux deux bouts par des disques de verre, tenus en place à l'aide d'une fermeture à pas de vis. Il est évident que plus la colonne de liquide soumise à l'examen sera longue, plus sera forte la déviation du plan de polarisation. On emploie comme source de lumière, tantôt une flamme blanche fournie par une lampe à gaz ou à pétrole, tantôt la lumière monochromatique du sodium obtenue en introduisant une cupule de platine, contenant du chlorure de sodium fondu, dans la flamme d'un brûleur de Bunsen. Quelle que soit la source lumineuse, il faut éviter l'introduction des rayons directs dans l'appareil de polarisation; pour cela on entoure la flamme d'un manchon en terre, noirci au dehors, ou en tôle et percé d'un trou latéral muni ou non d'un appareil de condensation pour laisser passer la lumière.

Après avoir fixé préalablement l'appareil au zéro, interposé le tube contenant le liquide à analyser, on observe la déviation du plan de polarisation. Si l'on est

obligé de tourner le bouton du compensateur à droite ou dans le sens des aiguilles d'une montre pour rétablir l'égalité de la teinte primitive, on dit que la substance dévie à droite, est dextrogyre, et l'on désigne le sens de la déviation par le signe + ou la flèche ↗. Doit-on, au contraire, tourner à gauche ou en sens inverse des aiguilles d'une montre, la substance est lévogyre, la déviation est à gauche et s'indique par le signe — ou la flèche ↖.

APPAREILS DE POLARISATION.

Les appareils de polarisation le plus fréquemment employés dans les recherches physiologiques sont : 1° le saccharimètre de Soleil, modifié en France par Duboscq, en Allemagne par Ventzke et M. Hoppe Seyler; il exige pour éclairage une flamme blanche; 2° le saccharimètre à pénombre de Jellett, construit par Duboscq, et 3° le polaristrobomètre de Wild : ces deux derniers doivent être éclairés par une flamme jaune.

Mentionnons encore pour mémoire l'appareil primitif de Mitscherlich, le diabétomètre de Robiquet et celui d'Yvon (1), le saccharimètre de Laurent et celui de Cornu.

1. SACCHARIMÈTRE DE SOLEIL-DUBOSCQ.

L'appareil se compose essentiellement de deux parties entre lesquelles on place le tube contenant le liquide à analyser. La partie tournée vers la source de lumière renferme : 1° un nicol polariseur *p*; 2° deux lames de quartz juxtaposées *o*, taillées perpendiculairement à l'axe optique du cristal et déviant d'une même quantité le plan de polarisation, l'une à droite, l'autre à gauche. La partie tournée vers l'observateur contient : 1° une lame de quartz *g* taillée perpendiculairement à l'axe et déviant à gauche; 2° deux prismes de quartz droit verticaux *c*, mobiles l'un sur l'autre à l'aide d'un bouton qui permet d'augmenter ou de diminuer leur épaisseur et de compenser l'effet produit par le quartz gauche et constituant un compensateur; 3° deux nicols *a* et *b* dont l'un *a* peut tourner autour de l'axe optique de l'appareil; 4° un système de lentilles *d* et *e* formant lunette de Galilée (voir fig. 11).

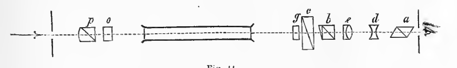


Fig. 11.

Les déplacements des deux prismes du compensateur s'estiment à l'aide d'une échelle fixée sur l'un des prismes, et d'un index marqué zéro qui se trouve sur l'autre. Quand le compensateur est au zéro, l'effet du quartz gauche est exacte-

(1) Yvon, *Anal. des urines*, 2e édit., 1884, p. 186.

ment compensé par une épaisseur convenable du quartz droit, de sorte que l'on n'observe pas de déviation du plan de polarisation quand le tube à liquide intercalé dans l'appareil ne renferme pas de substance active. La lunette de Galilée permet de mettre au point la ligne de séparation des deux quarts de rotation différente *o*. La rotation du nicol *a* produit des colorations d'intensité variable, mais égales pour les deux moitiés du disque éclairé, quand l'appareil est au zéro et ne renferme pas de substance active, inégales dans le cas contraire.

Installation de l'appareil. — On place entre les deux parties un tube de 20 centimètres plein d'eau distillée; l'index zéro du compensateur étant en regard du zéro de l'échelle graduée du second prisme, l'observateur regarde par l'oculaire qu'il règle de façon à voir nettement la ligne de jonction de la double plaque de Soleil *o*; les deux parties du disque coloré ont la même intensité si l'appareil est bien réglé. On tourne le nicol *a* de façon à obtenir une coloration très sensible, c'est-à-dire facilement appréciable au moindre changement; on choisit généralement comme teinte sensible une teinte rose ou bleue violacée. L'appareil étant au zéro, si les deux moitiés du disque n'ont pas la même intensité, on rétablit l'égalité de teinte en agissant par une vis latérale sur un des prismes de quartz dont on augmente ou diminue ainsi l'épaisseur; puis l'appareil étant réglé reste indéfiniment réglé pourvu qu'on ne touche plus à ladite vis.

Observation. — Le liquide incolore ou décoloré est introduit dans le tube de 20 centimètres, et placé entre les deux parties de l'appareil au zéro. La teinte des deux moitiés du disque lumineux est égale si la solution est sans action sur la lumière polarisée; dans le cas contraire, on tourne le bouton du compensateur de façon à rétablir l'égalité de teinte. On procède alors à une seconde observation plus exacte, en rétablissant la teinte sensible à l'aide du nicol *a*, puis on lit le déplacement du zéro sur l'échelle.

Interprétation des résultats. — L'appareil de Soleil est gradué de telle façon qu'en observant, sous une épaisseur de 20 centimètres, une solution aqueuse de saccharose pure à 16gr,35 p. 100, on obtient une déviation de 100 degrés (1).

1° correspond donc à 0gr,1635 de saccharose dont le pouvoir rotatoire pour la teinte de passage est de + 56,8. Étant données les déviations spécifiques de la glucose + 56°,4 (Hoppe Seyler), de l'albumine du sérum — 56°, de la lactose + 58°,2, etc., il est facile de calculer à quelle quantité de ces diverses substances correspond 1 degré du saccharimètre de Soleil, pour une épaisseur de liquide constamment égale à 20 centimètres. En effet :

1° correspond à $\frac{16,35}{100} = 0^{gr},1635$ p. 100 de saccharose,

— $0,1635 \times \frac{73,8}{56,4} = 0,21394$ — de glucose,

— $0,1635 \times \frac{73,8}{56,0} = 0,21547$ — d'albumine,

— $0,1635 \times \frac{73,8}{58,2} = 0,20732$ — de lactose.

Remarque. — Il existe des divergences assez sensibles (2) dans les pouvoirs

(1) *Pratique du saccharimètre de Soleil modifié par J. Dubosq*, Paris, 1873, p. 6.

(2) Neubauer et Vogel, *Anal. des Harns*, 8e édit., 1881, p. 117.

rotatoires spécifiques pour la raie D des substances qui nous intéressent, suivant les auteurs qui les ont déterminés. C'est ainsi que, pour la glucose, on a indiqué les diverses valeurs qui suivent :

Sucre de diabète.	$\alpha_D = + 53,45$	(Hoppe Seyler, 1866).
Glucose végétale.	53 à 53,40	(Tollens, 1876).
Sucre de diabète.	56,4	(Hoppe Seyler, 1876) (1).
—	52,5	(Landolt, 1879) (2).

Si l'on admet le dernier chiffre donné par Hoppe Seyler, $\alpha_D = + 56,4$, vrai suivant l'auteur, pour des concentrations comprises entre 46 et 290 grammes de glucose par litre, ainsi que le font encore aujourd'hui la plupart des chimistes, les résultats fournis par l'appareil de Soleil sont bien ceux qui ont été mentionnés précédemment. Si, au contraire, on adopte avec Huppert le chiffre de Landolt 52,5, lequel, suivant ce dernier, est exact pour des solutions dont la richesse en sucre de diabète est comprise entre 2 et 13 p. 100, chaque degré de l'appareil représentera non plus 0,21394 de glucose p. 100, mais la quantité nouvelle suivante :

$$0,1635 \times \frac{73,8}{52,5} = 0,22983.$$

C'est là le coefficient que nous avons adopté, puisqu'il est calculé d'après les données les plus récentes de la science.

2. SACCHARIMÈTRE A PÉNOMBRE DE M. JELLETT.

Comme dans l'appareil de Soleil, le saccharimètre à pénombre construit par Duboscq comprend deux parties. La première, tournée vers la source de lumière, fournie cette fois par l'introduction du chlorure de sodium dans un bec de Bunsen, se compose : 1° d'une lame de bichromate (*b*) destinée à débarrasser la lumière jaune des rayons verts, bleus ou violets; 2° d'un nicol polariseur *p*; 3° d'un prisme de Jellett (3) (*j*).

La partie tournée vers l'observateur contient (voir fig. 12) : 1° un nicol analyseur (a); 2° un système lenticulaire *g* formant lunette de Galilée pour la mise au point.

Fig. 12.

Le nicol analyseur (a) est mobile sur un cercle divisé portant deux espèces de divisions. La division supérieure, à droite du zéro, placée suivant un diamètre ver-

(1) Hoppe Seyler, *Zeitsch. f. anal. Chem.*, 1876.
(2) Landolt, *Das optische Drehungsvermögen organischer Substanzen*, Brunswig, 1879.
(3) *Physique* de Jamin, 3e édit., t. III, p. 162.

tical marquée sucre *cristallisable* et à gauche du zéro sucre *incristallisable*, correspond (?) à la division du saccharimètre de Soleil et donne en centièmes, pour une épaisseur de 10 centimètres, la quantité de sucre cristallisable. La graduation inférieure, destinée aux expériences de laboratoire est en demi-degrés, avec vernier donnant le 1/10 de degré.

Installation de l'appareil. — On place dans le saccharimètre éclairé par une flamme monochromatique au sodium, un tube de 20 centimètres plein d'eau distillée, et l'on met en regard le 0 fixe du cercle et le 0 du vernier mobile qui entraîne dans sa rotation le nicol analyseur (*a*) ; puis on met au point la lunette de Galilée sur la ligne noire verticale qui sépare les deux demi-disques éclairés en jaune. La teinte de ces demi-disques doit être rigoureusement égale ; si l'un est plus foncé que l'autre, l'appareil restant au zéro, on établit l'égalité de teinte à l'aide d'un bouton molleté qui imprime au nicol (*a*) un mouvement de rotation micrométrique dans sa gaine.

Observation. — Le liquide à examiner, décoloré au préalable, est introduit dans un tube de 20 centimètres, et placé dans l'appareil réglé au zéro. S'il imprime une déviation au plan de polarisation, l'un des demi-disques devient plus ou moins noir. On fait mouvoir l'alidade qui porte le nicol analyseur sur le cercle gradué, jusqu'à rétablissement de l'égalité de teinte, et on lit la déviation qui est *droite*, si l'alidade a été déplacée à droite du 0 ; *gauche*, dans le cas contraire.

Interprétation des résultats. — Nous avons à considérer l'emploi de la graduation supérieure et celui de la graduation inférieure.

1° *Graduation inférieure.* — La graduation que porte la moitié inférieure du disque fixe sur lequel se déplace l'alidade du nicol (*a*) est marquée en degrés et demi-degrés, avec vernier donnant le dixième de degré.

Considérons le cas du dosage de la glucose dans une urine diabétique. La déviation spécifique du sucre de diabète étant $+ 52°,5$ pour une épaisseur de 20 centimètres et une richesse de 100 p. 100, la solution à ce titre marquera 105° sous une épaisseur de 20 centimètres, et 1° de déviation représentera $\frac{100}{105} = 0,9525$ de glucose anhydre p. 100 ou $9^{gr},525$ par litre.

Il suffira donc de multiplier ce coefficient 9,525 par la déviation observée, exprimée en degrés et dixièmes de degré, pour obtenir la richesse de l'urine en glucose.

Pour la même raison, on verra que, sous une épaisseur constante de 20 centimètres,

$$1° \text{ représente } \quad \frac{100}{56 \times 2} = 0,8928 \text{ d'albumine p. 100.}$$

$$— \quad \frac{100}{58,2 \times 2} = 0,8591 \text{ de lactose p. 100.}$$

2° *Graduation supérieure.* — Cette graduation est destinée, suivant le constructeur, à donner immédiatement le p. 100 en saccharose d'une solution de sucre candi. Il semble donc que, pour obtenir la valeur de ce nouveau genre de degré en glucose, il suffirait de multiplier par le rapport inverse des déviations spécifiques correspondantes $\frac{73,8}{52,5}$; mais nous allons opérer autrement et calculer

cette valeur en fonction de la valeur du degré de circonférence $\left(\frac{1}{360}\right)$ que nous venons de déterminer.

Sur l'appareil de Duboscq, les 150 divisions de la graduation supérieure sont égales à 32°,5 de la graduation inférieure. Or nous avons trouvé précédemment que, pour une épaisseur de 20 centimètres, 1° de circonférence représente 0,9529 de glucose p. 100,

32°,5 ou 150 divisions valent donc $0{,}9525 \times 32{,}5$

et 1 division vaut $\frac{0{,}9525 \times 32{,}5}{150} = 0^{gr},20638$

de glucose p. 100, soit $2^{gr},0638$ par litre.

De même on trouverait que :

1 division supérieure vaut $\frac{0{,}8928 \times 32{,}5}{150} = 0{,}10344$ d'albumine p. 100.

— $\frac{0{,}8591 \times 32{,}5}{150} = 0{,}186138$ de lactose p. 100.

3. DÉTERMINATION DU POUVOIR ROTATOIRE SPÉCIFIQUE D'UN CORPS.

Les appareils gradués en degrés, fraction de circonférence de cercle $\left(\frac{1}{360}\right)$, servent non seulement à la détermination de la quantité d'un composé qui se trouve en dissolution, quand on connaît son pouvoir rotatoire spécifique, mais à la détermination de ce pouvoir rotatoire. Avec le saccharimètre de Jellett et le polaristrobomètre de Wild, éclairés par la flamme de sodium, la rotation spécifique est déterminée par rapport à la raie D et s'écrit $(\alpha)_D$ ou $(\alpha)_j$.

Le moyen le plus simple consiste à faire une solution très concentrée de la substance, chimiquement pure, dans de l'eau distillée (ou de l'alcool) ; on en remplit un tube d'une longueur (l) en décimètres aussi grande que possible et l'on détermine la déviation (α). On vide ensuite le tube qu'on lave soigneusement, on évapore la solution en prenant les précautions convenables pour éviter l'altération du corps qu'on pèse une fois sec (p) ; enfin on connaît le volume exact (V) du tube. La formule du pouvoir rotatoire spécifique est :

$$(\alpha)_D = \pm \alpha \frac{V}{pl}.$$

On peut aussi faire une solution titrée du corps telle qu'elle contienne, par centimètre cube, (p) de substance exprimée en grammes ; on observe la déviation (α) sur une longueur en décimètres (l), et l'on applique la nouvelle formule :

$$\alpha_{(D)} = \mp \frac{\alpha}{pl}.$$

Si l'on possède le saccharimètre de Soleil modifié par Ventzke, dont chaque division représente 1 gramme p. 100 de glucose et d'albumine, à condition qu'on

opère sur une longueur de 10 centimètres, la quantité de substance analysée étant de (*p*) p. 100 de solution, et le pouvoir rotatoire de la glucose et de l'albumine étant 56, la déviation spécifique cherchée sera donnée par la formule très simple :

$$\alpha_{(D)} = \pm 56,4 \frac{\alpha \times 100}{p \times l}.$$

4. POLARISTROBOMÈTRE DE WILD.

Le polaristrobomètre de Wild présente sur les appareils précédents l'avantage de fournir des résultats plus précis. Au lieu de comparer les teintes de deux demi-disques, opération qui se fait avec un degré d'exactitude très variable, suivant la sensibilité de l'œil de l'observateur, on détermine le moment de la disparition de bandes noires vues sur fond jaune.

L'appareil se compose : 1° d'un nicol polariseur (*p*), mobile autour de son axe avec un disque vertical auquel il est fixé et dont le mouvement est produit par une vis d'appel; 2° au delà du tube à liquide, d'un polariseur de Savart (*s*) (1); 3° d'un nicol analyseur (*a*), et 4° d'un système lenticulaire formant lunette de Galilée (*l*) (voir fig. 13).

Fig. 13.

Le polariscope de Savart interposé sur le trajet des rayons lumineux fait naître dans le champ éclairé des franges d'interférence pour toutes les positions du polariseur et de l'analyseur, sauf dans le cas où leurs sections principales sont parallèles ou perpendiculaires. La lunette de Galilée porte en avant et à son foyer un diaphragme, muni de deux fils croisés dont on doit préciser l'image très exactement.

Une seconde lunette latérale permet de lire la graduation que porte le disque fixé au nicol mobile (*p*), lequel se meut en regard d'un index fixe marqué *o* et éclairé par une petite flamme latérale.

L'éclairage du polaristrobomètre se fait, comme pour l'appareil à pénombre, à l'aide d'une flamme monochromatique au sodium.

L'une des moitiés du disque porte une graduation allant jusqu'à 300, à droite du zéro et à 150 à gauche; chaque unité représentant 1 gramme de saccharose pure par litre, sous une épaisseur de 20 centimètres. Le côté opposé du disque est gradué en degrés et 1/5 de degré, en tout 360 degrés; cette nouvelle graduation donne, en valeur absolue, les angles de rotation du plan de polarisation.

Installation de l'appareil. — L'instrument étant bien éclairé par ses deux flammes, l'une monochromatique jaune pour le polariscope l'autre blanche et de l'intensité d'une bougie pour le cercle gradué mobile, on met l'oculaire au

(1) *Physique* de Jamin, 3e édit., 1881, t. III, 3e fasc., p. 461.

point sur les fils croisés qui doivent être très nets. On observe alors une série de bandes horizontales noires dont l'intensité varie suivant la position de l'un des nicols et qui disparaissent complètement ou du moins dans la partie centrale, quand les deux nicols sont parallèles ou à 90 degrés; on ne voit plus alors que le champ jaune sur lequel se dessinent les deux fils croisés. On cherche la position où le 0 fixe est en regard du chiffre 50 de la division en degrés du cercle mobile, laquelle doit correspondre à la disparition des franges; si celles-ci persistent, on agit sur deux vis micrométriques qui font tourner le polariscope à droite ou à gauche dans son enveloppe jusqu'à ce que le champ devienne bien net. L'appareil est dès lors réglé.

Observation. — Le liquide simplement filtré, s'il est jaune et peu coloré, sinon décoloré par un moyen quelconque, est introduit dans le tube calibré de 20 centimètres et intercalé entre le polariseur et le polariscope (1). On corrige la déviation du plan de polarisation, si elle se produit, en tournant la vis de rappel du cercle gradué à droite ou à gauche et suivant que le chiffre trouvé au moment de la disparition des franges est $<$ ou $>$ que 50, la rotation est droite ou gauche. On lit enfin la déviation que l'on exprime en degrés et dixièmes de degré en plus ou en moins que 50 (point de départ).

Interprétation des résultats. — Nous prendrons encore, comme exemple de calcul, le cas de l'examen d'une urine diabétique.

Le pouvoir rotatoire spécifique de la glucose de l'urine étant $(\alpha)_D = +52{,}5$ (Landolt), c'est-à-dire qu'une solution de 100 grammes de glucose pour 100 centimètres cubes, examinée sous une épaisseur de 10 centimètres déviant à droite de 52,5, cette même solution, sous une épaisseur de 20 centimètres, déviera du double ou de 105 degrés.

1° correspond donc à $\frac{100}{105}$ ou 0,9525 de glucose p. 100, ou à 9gr,525 par litre.

Supposons qu'on ait trouvé une déviation de 8°,6 au delà de 50 pour une urine; la quantité de glucose par litre, sera de 9gr,525 × 8°,6 = 81gr,74.

On reconnaît de même que, sous l'épaisseur de 20 centimètres,

$$1° \text{ représente } \frac{100}{56 \times 2} = 0{,}8928 \text{ d'albumine p. 100}$$

$$— \quad \frac{100}{58{,}2 \times 2} = 0{,}8591 \text{ de lactose p. 100.}$$

Remarque. — L'appareil de Wild peut servir tout aussi bien que le saccharimètre à pénombre à la détermination des pouvoirs rotatoires spécifiques; les méthodes et formules sont les mêmes que celles qui ont été décrites page 46.

Décoloration des liquides. — Quand les liquides à soumettre à l'examen polarimétrique sont très peu colorés et que la coloration est jaunâtre, sans mélange de rouge ou de brun, une simple filtration suffit comme traitement préalable, surtout pour l'appareil de Wild.

Quand la décoloration s'impose, on peut recourir à divers procédés : si l'acétate

(1) On doit éviter de trop serrer les deux disques de verre placés aux bouts du tube, sans quoi l'on comprime le liquide et l'on court le risque de ne plus pouvoir faire disparaître les franges noires.

de plomb n'a pas d'inconvénient, et c'est le cas des urines diabétiques acides (si elles étaient alcalines, il faudrait les aciduler par l'acide acétique), on ajoute au liquide de l'acétate de plomb, puis on traite le liquide filtré soit par un courant d'hydrogène sulfuré, soit par du sulfate de sodium pour éliminer l'excès de plomb, et l'on soumet le produit limpide final à l'examen polarimétrique, en tenant compte de la dilution du liquide.

Le plus souvent on se sert de noir animal lavé à l'acide. On admet que le liquide décoloré a gardé sa richesse primitive en substance active, ce qui peut n'être pas toujours vrai, comme Seegen l'a démontré pour l'urine diabétique (voir *Urines*, p. 102).

DEUXIÈME PARTIE.

MÉTHODES SPÉCIALES CHIMIQUES DE RECHERCHES ET DE DOSAGES.

CHAPITRE PREMIER.

ANALYSE DES URINES.

GÉNÉRALITÉS.

Les aliments se divisent dans le tube digestif en deux parties : l'une, constituée par les substances réfractaires à l'action des sucs digestifs, est éliminée directement par l'anus ; son mélange avec les débris de la desquamation épithéliale des muqueuses stomacales et intestinales, et la partie non résorbée des sécrétions digestives constitue les fèces. La seconde, essentiellement assimiliable, pénètre par endosmose dans le torrent circulatoire, se répand dans les diverses parties de l'organisme, y séjourne un certain temps en devenant partie constituante des tissus; puis, en vertu de la loi générale du renouvellement de la matière dans les êtres animés, se transforme, sous l'influence des fonctions diverses, en produits de régression de moins en moins complexes qui sont entraînés par le sang vers les divers émonctoires. De ces produits de déchets, les uns sont éliminés par les poumons (eau, acide carbonique, azote?), les autres par la sueur et les sécrétions, en partie récrémentitielles ; mais la majeure partie des éléments solides excrémentitiels vrais passe à travers le filtre rénal : le produit de la sécrétion rénale constitue l'urine.

L'*urine* de l'homme présente des *caractères généraux* qui la placent entre celle des herbivores et celle des carnivores, plus près cependant de celle-ci, bien qu'elle soit le produit final d'une alimentation mixte.

C'est un liquide limpide, d'une couleur ambrée. Sa réaction, notamment acide, ne devient neutre ou très légèrement alcaline qu'au moment de la digestion ou à la suite de bains tièdes. Sa saveur est amère et salée, et son odeur caractéristique est due à des acides volatils (phénique, taurylique, damalurique et damalique de Stœdeler. Sa densité varie entre 1005 et 1030 ; elle dépend d'ailleurs du

sexe, de l'âge, du régime, et en général des conditions physiologiques diverses de l'individu.

L'urine des 24 heures est toujours acide et doit son acidité surtout aux phosphates acides (Liebig), ainsi qu'aux acides urique, hippurique, lactique et phénique qui s'y trouvent en faible quantité.

La *composition* de l'urine humaine est sous l'influence directe des conditions physiologiques et pathologiques les plus diverses de l'économie. Aussi l'analyse de cette sécrétion est-elle aujourd'hui de la plus haute importance pour le médecin, surtout en raison des changements qui s'y opèrent. Ces variations dépendent non seulement de la proportion des principes normaux qu'elle renferme, mais encore de leur nature ; elles sont corrélatives des transformations et modifications qui se produisent au sein de l'organisme et dont elle nous permet très souvent de nous rendre un compte exact. En dehors de ces applications au diagnostic et au pronostic de certaines affections générales ou locales, l'examen des urines est souvent le seul moyen de déterminer rigoureusement la nature et le siège de certaines maladies.

Principes constitutifs.

Les *principes constitutifs* de l'urine se répartissent entre deux groupes naturels : 1° principes constants; 2° éléments anormaux ou inconstants.

Dans le groupe *des principes constants et normaux*, on trouve les composés suivants : urée, acide urique, acide hippurique, créatinine, xanthine, hypoxanthine, paraxanthine, neurine (?), acides oxalique, oxalurique et hippurique, acides sulfocyanique, phosphoglycérique, succinique, chrysophanique, etc., dérivés phénoliques, matières colorantes, principalement de l'urobiline et de l'indican, matières extractives, mucus vésical, oxalate de chaux, glucose (?), acides gras (traces); — et comme éléments minéraux : eau, potassium, sodium, ammonium, calcium, magnésium et traces de fer, sous forme de chlorures, de sulfates, ou de phosphates; traces de nitrates et de silice; acide carbonique, azote et traces d'oxygène en dissolution.

Le groupe des *éléments anormaux* ou *inconstants* contient : de l'albumine, des globulines, de la mucine et des peptones; de la glucose, de l'inosite, de la lactose et de la maltose; de l'acide éthyldiacétique et de l'acétone; des acides gras, lactique et succinique; des matières grasses; de la bilirubine, des pigments et des sels biliaires, de l'uroroséine, de l'hémoglobine, de la méthémoglobine, des acides sulfoconjugués des phénols, de l'acide benzoïque, de l'alcaptone (pyrocatéchine), de l'allantoïne, de la leucine, de la tyrosine, de la cystine, de la taurine, des ferments de l'urée et autres, des éléments de pus et de sperme; du carbonate d'ammoniaque, du phosphate ammoniaco-magnésien, de l'hydrogène sulfuré, de l'eau oxygénée (?).

Les *dépôts* qui se produisent fréquemment dans les urines, abandonnées au repos, alors même qu'elles étaient limpides au moment de leur émission, et qui forment des sédiments plus ou moins abondants et de couleur variable, peuvent renfermer : de l'acide urique, des urates acides de sodium, de potassium et d'ammonium; de l'oxalate de chaux, des phosphates de chaux et de magnésie, du phosphate ammoniaco-magnésien, de la cystine, de la tyrosine, de la

cholestérine, de la xanthine et du mucus, à côté desquels on rencontre, comme substances organisées : des épithéliums, du pus, du sang, du sperme, des sarcines, de la fibrine coagulée, des champignons, des infusoires, etc.

Enfin, on ne doit pas oublier qu'un grand nombre de médicaments ou de substances, introduites accidentellement dans l'économie humaine, apparaissent dans les urines transformées plus ou moins complètement.

§ I. — OPÉRATIONS PRÉLIMINAIRES.

1. RECUEIL DE L'URINE.

En raison des variations incessantes dans sa composition qu'éprouve l'urine émise, il est indispensable, pour l'analyse, de recueillir l'ensemble des liquides des 24 heures. Dans ces conditions, on arrive à des résultats toujours comparables entre eux. Or, comme les produits de l'émission nocturne sont les plus riches et les plus altérables, il convient de préférence de conserver les urines à partir du matin.

Les vases employés à cet usage doivent être très propres, lavés au vinaigre, puis à l'eau, afin d'éloigner les ferments.

2. MESURE DE LA QUANTITÉ.

1) Le volume de l'urine doit être déterminé à l'aide d'éprouvettes suffisamment étroites (8 à 10 centimètres) pour ne laisser place qu'à une erreur maxima de 5 centimètres cubes. — 2) A défaut de vases gradués, on peut peser l'urine; le volume sera égal au poids obtenu divisé par la densité. — Tous les calculs de l'analyse seront rapportés au volume de l'émission des 24 heures.

3. COLORATION.

On apprécie la coloration de l'urine filtrée, en la comparant, sous une épaisseur de 12 à 15 centimètres, avec les neuf teintes du tableau de Vogel obtenues par des mélanges en proportion variable de gomme-gutte, de laque carminée et de bleu de Prusse. Ces teintes sont réparties dans les trois groupes suivants :

1° Urines jaunâtres.	1) jaune pâle.
	2) jaune clair.
	3) jaune.
2° Urines rougeâtres	4) jaune rouge.
	5) rouge jaune.
	6) rouge.
3° Urines brunes, foncées . .	7) rouge brun.
	8) brun rouge.
	9) noir brun.

La couleur normale correspond au n° 3; les urines diluées, nerveuses, anémiques et glucosuriques ont les teintes 1 et 2; les urines concentrées et riches en urates (fièvre, goutte, rhumatisme) ont les n°s 4 et 5; les teintes 6, 7, 8 et 9 appartiennent aux urines à matières colorantes anormales (sang, bile), etc., ou émises à la suite de l'ingestion de certains médicaments qui leur communiquent des teintes brun foncé (bois de campêche, café fort, térébenthine), vert olive foncé ou vert noirâtre (acide phénique, goudron, kairine, feuilles de raisin d'ours, hydroquinone, naphtaline), ou rouge plus ou moins vif (fuchsine).

L'appareil de M. A. Gautier (1), qui détermine l'épaisseur de l'urine sous laquelle disparaît la différence de coloration de deux bandes de papier vert et bleu pâle, n'est pas à recommander; il ne renseigne aucunement sur la valeur absolue de la teinte.

4. ODEUR, TRANSPARENCE, CONSISTANCE.

4) L'*odeur*, la *transparence*, la *consistance* s'apprécient facilement sans appareils spéciaux.

5. DENSITÉ.

On peut déterminer la densité de l'urine, soit par la méthode du flacon, soit à l'aide de la balance à densité de Mohr-Westphal (2); mais pour les besoins cliniques, la méthode de l'aréomètre donne des résultats très suffisants.

Le densimètre spécial pour les urines ou *uromètre* comporte un flotteur volumineux surmonté d'une mince tige graduée de 1.008 à 1.050, l'eau pesant 1.000, et d'une longueur suffisante pour permettre d'apprécier le demi-degré. Pour plus d'exactitude encore, on peut prendre deux appareils comprenant, le premier, les degrés de 1.000 à 1.025, et le second, ceux de 1.025 à 1.050. L'instrument doit flotter librement dans l'éprouvette sans en toucher la paroi; et pour faire la lecture quand la mousse est tombée, on doit faire affleurer au rayon visuel horizontal la partie inférieure du ménisque de la surface liquide. Le résultat n'est exact qu'autant qu'on opère à 15°, température à laquelle l'instrument a été gradué; sinon pour chaque différence de 3 degrés en plus ou en moins que 15, on doit augmenter ou diminuer la densité de une unité (Simon). La température est indiquée soit par un thermomètre spécial, mieux encore par un thermomètre contenu dans le densimètre et dont le réservoir constitue le lest.

6. RÉACTION AU TOURNESOL.

On emploie pour cette détermination le papier de tournesol sensibilisé, bleu et rouge, qui vire sous l'influence des moindres traces d'acide ou de base. Il doit être conservé à l'abri de la lumière et des émanations gazeuses. Le papier à deux teintes qu'on a proposé n'offre aucun intérêt pratique. Quelquefois l'urine,

(1) A. Gautier, *Chimie appl. à la physiologie*, t. II, p. 69, Paris, 1874.

(2) Neubauer et Vogel, *Anal. des urines*, trad. de Gautier, Paris, 1877, p. 194.

dont la réaction normale est franchement acide, rougit et bleuit à la fois le tournesol (urines amphotères). Quand l'urine est alcaline, le papier bleui redevient rouge à l'air chaud, si la réaction est due à du carbonate d'ammoniaque; la coloration bleue persiste, au contraire, sous l'influence des carbonates alcalins fixes. L'urine peut être alcaline au moment même de son émission (catarrhes vésicaux), ou ne le devenir que dans les vases où on la conserve, par suite d'une fermentation.

7. DEGRÉ D'ACIDITÉ DE L'URINE.

Cette détermination se fait par la méthode volumétrique, à l'aide d'une liqueur titrée de potasse. Or, comme on se trouve dans l'impossibilité d'attribuer la réaction acide à un élément déterminé de l'urine, on exprime les résultats en acide sulfurique ou en acide oxalique.

On suivra une méthode analogue pour doser l'alcalinité, à l'aide d'une liqueur titrée sulfurique, et l'on exprimera le résultat en ammoniaque.

8. DÉTERMINATION DE L'EXTRAIT OU DE LA TOTALITÉ DES SUBSTANCES SOLIDES.

Les diverses méthodes proposées pour déterminer le résidu de l'urine sont loin de présenter le même degré d'exactitude, et malheureusement celle qui donne les meilleurs résultats est la plus longue et la plus délicate.

1° On opère rapidement en évaporant 10 centimètres cubes d'urine au bain-marie, dans une capsule de platine, et desséchant complètement pendant 2 heures à l'étuve à air de Gay-Lussac réglée à 100°, puis pesant après refroidissement sous une cloche à acide sulfurique. Mais, dans ces conditions, le phosphate acide de sodium, contenu dans l'urine, hydrate une partie de l'urée et la dédouble en acide carbonique et en ammoniaque; cette dernière, d'abord fixée par le phosphate, se dégage ultérieurement, de sorte que, pendant toute la durée de l'évaporation, on constate un dégagement continu d'ammoniaque en même temps qu'une réaction toujours acide du résidu.

2° Pour éviter ces pertes constantes, Neubauer (1) propose de dessécher l'urine en vase clos et de condenser l'ammoniaque dégagée dans de l'acide sulfurique titré pour la doser ensuite volumétriquement. Sachant que 1,1335 d'AzH^3 correspond à 2 d'urée, on transformera l'ammoniaque volatilisée en urée qu'on ajoutera au poids du résidu de la capsule; de cette façon on obtient un résultat très satisfaisant et très rapproché de celui que donne le procédé de Magnier de la Source. On sait que ce chimiste évapore 1 ou 2 centimètres cubes d'urine maintenus pendant 24 heures dans le vide sous une cloche à acide sulfurique ou à anhydride phosphorique.

3° M. A. Gautier conseille de neutraliser au préalable l'urine avec un poids déterminé de soude caustique qu'on défalque ensuite de celui du résidu de l'urine.

(1) Neubauer et Vogel, *loc. cit.*, p. 199.

4° Neubauer (1) a proposé une méthode empirique, très rapide, basée sur la proportionnalité qui existe entre la densité de l'urine et le poids de son extrait. Il suffit, pour avoir l'extrait d'une urine, de multiplier les deux derniers chiffres de la densité exprimée avec trois décimales, par le coefficient 2,33, auquel Ritter a substitué celui de 2,30. Dans le cas d'urines glucosuriques, très riches en sucre, Bouchardat recommande, comme plus exact, le chiffre 2,1 (2). Les résultats obtenus par ce procédé, assez bons quand ils se rapportent à des urines normales, ne le sont plus pour les urines pathologiques. En employant les coefficients, on s'exposerait à des erreurs qui peuvent s'élever à 20 ou 30 grammes par 24 heures, tant pour certaines urines émises en quantité faible (fièvres) que pour d'autres, au contraire, très abondantes (polyurie nerveuse ou phosphatique). On ne devra donc appliquer la méthode empirique de Neubauer, avec quelque chance d'exactitude relative, que lorsque l'émission des 24 heures se rapprochera de la normale.

La même critique est applicable, d'une manière générale, à tous les procédés empiriques analogues qu'on a proposés pour la détermination approximative de divers éléments de l'urine, tels que l'acide urique (Méhu), la glucose (Bouchardat), etc.

9. DOSAGE DES SELS FIXES.

Le poids des cendres laissées par l'incinération du résidu de l'évaporation de 10 centimètres cubes d'urine, représente les sels fixes. Pour éviter la perte, due à la volatilisation partielle des chlorures, on doit chauffer d'abord jusqu'à carbonisation, puis épuiser la masse refroidie par de l'eau, jeter sur un petit filtre, achever l'incinération du résidu charbonneux auquel on ajoute le filtre, et verser dans la capsule la partie soluble qu'on évapore au bain-marie, puis à l'étuve à air. En retranchant du poids du résidu celui des cendres du filtre, on obtient le poids des sels.

§ II. — DOSAGE DES ÉLÉMENTS MINÉRAUX NORMALEMENT CONTENUS DANS L'URINE.

Les principaux composés minéraux que l'on trouve constamment dans l'urine sont les acides chlorhydrique, sulfurique et phosphorique, combinés au calcium, au magnésium, au potassium, au sodium, à l'ammonium, avec des traces de fer. Outre ces éléments dont nous nous occuperons spécialement, l'urine renferme encore, mais en quantité excessivement faible, de la silice, des nitrates qui se réduisent pendant la fermentation des liquides en nitrites (Schœnbein), enfin de l'eau oxygénée (Schœnbein).

(1) Neubauer et Vogel, *loc. cit.*, p. 201.
(2) Ritter, *Manuel de chim. prat.*, 1874, Paris, p. 386.

1. DOSAGE DES CHLORURES.

Principe. — Le dosage des chlorures par la méthode volumétrique de Mohr (1) repose sur le principe suivant : l'addition ménagée d'une solution de nitrate d'argent dans un mélange de chlorure, chromate et phosphate alcalins, précipite successivement ces divers sels dans l'ordre de leur énumération; de sorte que ce n'est que quand tout le chlorure a été précipité en blanc, qu'on voit se produire une coloration rose due à la formation de chromate d'argent insoluble dans l'eau. Comme le chromate d'argent est soluble dans les acides minéraux, et transformé par les alcalis en chromate jaune soluble et en oxyde d'argent brun, on ne doit opérer que dans un milieu neutre, ou très légèrement acidulé par l'acide acétique (Rabuteau).

Liqueur titrée. — La composition de la liqueur argentique, calculée d'après la formule :

$$AzO^3Ag + NaCl = AzO^3Na + AgCl$$

est telle, que 1^{cc} précipite exactement 0^{gr},005 de Cl (23,9436 grammes d'azotate d'argent par litre) ou 0^{gr},005 de NaCl (14,53 de sel d'argent).

Manuel opératoire : 1re Méthode. Destruction des matières organiques.—On évapore au bain-marie, dans une capsule de porcelaine, 10 centimètres cubes d'urine additionnée de 4 à 5 grammes d'azotate de potassium pur, puis on incinère jusqu'à décoloration de la masse; le résidu salin est dissout dans 15 à 20 centimètres cubes d'eau, introduit dans une fiole d'Erlenmeyer, acidulé par l'acide azotique et finalement neutralisé par un léger excès de carbonate de chaux pur (on pourrait simplement faire bouillir la solution aqueuse avec 3 ou 4 grammes d'azotate de calcium qui transformerait en sel calcique insoluble les carbonates alcalins résultant de l'incinération de la matière organique). On colore par 3 gouttes de chromate de potassium saturé à froid et l'on verse dans le liquide la solution argentique jusqu'à production d'une teinte rose, persistante après agitation (Neubauer) (2).

Salkowski (3) fait remarquer, que, pendant l'évaporation des 10^{cc} d'urine, l'ammoniaque se volatilise en partie à l'état de chlorure, et occasionne par conséquent des pertes. Pour éviter cette cause d'erreurs, ce chimiste conseille d'alcaliniser d'abord l'urine par un léger excès de carbonate de soude, exempt de chlorure, de cette façon l'ammoniaque se volatilise à l'état de carbonate et le chlore reste tout entier en présence d'un excès d'alcali fixe. Il ajoute donc aux 10^{cc} d'urine 1 gramme de carbonate de soude pur et 1 à 2 grammes de nitre, évapore et poursuit d'après les indications de Neubauer.

2e *Méthode. Dosage direct.* — A ce modus faciendi un peu long, Rabuteau a proposé de substituer l'opération faite directement sur l'urine acidulée par l'acide acétique. Le procédé n'est plus très exact par suite d'une précipitation partielle de l'azotate d'argent par les matières colorantes et extractives de l'urine

(1) Mohr, *Anal. chim.*, trad. de Forthomme, Paris, 1875, p. 371.

(2) Neubauer et Vogel, *Anal. des Harns*, 1881, p. 323.

(3) Salkowski, *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, t. I, p. 16; t. II, p. 297; — *Zeitschr. f. anal. Chem.*, t. XX, p. 310.

(Neubauer) (1), dont la proportion augmente notablement dans certaines affections pathologiques.

Cependant le dosage direct dans l'urine, d'après la modification suivante, est bien suffisant pour les besoins cliniques, à condition que l'urine ne contienne pas d'albumine qu'on devrait éliminer au préalable par la coction. On verse le nitrate d'argent dans 10 centimètres cubes d'urine, acidulés franchement par l'acide nitrique, neutralisés par du carbonate de calcium et colorés avec le chromate. Les différences en trop, constatées au laboratoire des cliniques de notre Faculté, n'ont jamais dépassé $\frac{3,3}{100}$ du chiffre exact donné par la première méthode modifiée d'après les indications de Salkowski.

Calcul des résultats. — L'urine contenant à la fois des chlorures de sodium et de potassium, on exprime d'ordinaire les résultats de l'analyse en chlore calculé d'après la formule :

$$p \text{ de Cl} = \frac{0,005}{10} \times n \times E,$$

dans laquelle $n =$ le nombre de centimètres cubes de liqueur argentique exigée par 10^{cc} d'urine,

$E =$ émission d'urine des 24 heures.

En résumé, l'urine contient par litre autant de 1/2 grammes de Cl que l'on a employé de centimètres cubes de liqueur argentique; en opérant sur 10^{cc} d'urine p' de Cl au litre $= \frac{0,005 \times 1000}{10} \times n$.

Remarque. — Les bromures et iodures passent avec la plus grande facilité dans les urines et vicient les résultats du dosage de Cl. Pour éviter cette cause d'erreur, Salkowski conseille d'aciduler le produit de la déflagration des 10^{cc} d'urine avec le nitre par l'acide sulfurique, et d'éliminer I et Br par agitation avec du sulfure de carbone. On peut même ajouter au liquide acidulé par l'acide sulfurique quelques gouttes d'azotite de potassium pour obtenir une quantité d'acide azoteux suffisante pour chasser certainement tout l'iode. La solution aqueuse est neutralisée par du carbonate de chaux, évaporée, puis titrée comme à l'ordinaire par la liqueur d'argent.

Au procédé de Mohr, Volhard et Falk (2) ont substitué une nouvelle méthode dans laquelle on traite le liquide chloruré par un excès de liqueur argentique, et l'on dose l'excès d'argent par le sulfocyanure de potassium, en employant comme réactif indicateur le sulfate ferrique. Ce procédé, plus compliqué que le précédent, n'a que l'avantage de pouvoir être employé en solution acide.

2. DOSAGE DES PHOSPHATES.

Au dosage pondéral par le molybdate ammonique, il est préférable de substituer la méthode volumétrique de Lecomte par l'acétate d'urane, bien plus rapide et suffisamment exacte.

(1) Neubauer, *Anal. des Harns*, 1881, p. 318.
(2) Neubauer et Vogel, *Anal. de l'urine*, trad. française, Paris, 1877, p. 241.

Principe. — L'acétate d'urane précipite les solutions acétiques des phosphates en blanc, suivant la formule :

$$PhO^4M^3 + (C^2H^3O^2)^3Ur = (PhO^4)Ur + 3C^2H^3O^2M.$$

Ce précipité est insoluble dans l'acide acétique, soluble dans tous les acides minéraux, et n'est pas coloré en rouge par le cyanure jaune. En versant une solution de sel d'urane dans un phosphate, l'on n'obtiendra de coloration rouge avec le ferrocyanure que lorsque tout phosphate sera précipité. Mais la sensibilité de la réaction du cyanure jaune sur le sel soluble d'urane est entravée par la présence des acétates et des sels ammoniacaux ; et comme le dosage doit se faire dans un milieu acétique qui maintient en solution les phosphates de l'urine, il faut absolument : 1° employer toujours les mêmes quantités d'acide acétique ; 2° se servir d'une liqueur titrée qui contienne, outre la quantité d'acétate d'urane nécessaire pour précipiter un poids donné de phosphate, l'excès du sel qui fera apparaître la coloration rouge avec le ferrocyanure.

Liqueurs titrées. 1° *Acétate d'urane.* — On dissout 20gr,3 d'oxyde d'uranium pur et sec dans de l'acide acétique pur sans excès, et l'on étend au litre. 1cc de la solution précipite 0gr,005 de Ph^2O^5 et renferme en outre l'excès de sel nécessaire pour la réaction finale. On peut vérifier ce titre à l'aide d'une solution de 10gr,005 de phosphate de sodium neutre non effleuri, dissout dans 1 litre d'eau, dont 50cc contiennent 0gr,1 de Ph^2O^5 ; en ajoutant à ces 50cc, 5cc de la liqueur acétique suivante, il doit falloir exactement 20cc de liqueur uranique pour faire apparaître la coloration finale, si non, l'on étend la liqueur d'eau, et l'on ajoute une solution plus concentrée d'acétate.

2° *Liqueur acétique.* — On mélange dans un ballon de 1 litre, 100 grammes d'acétate de sodium, 100 grammes d'acide acétique et l'on étend au litre. On emploie pour chaque dosage 5cc de cette liqueur.

Manuel opératoire. — Dans une fiole d'Erlemneyer on mélange 50cc d'urine et 5cc de liqueur acétique. On porte à l'ébullition et l'on verse l'acétate d'uranium jusqu'à ce qu'une goutte du mélange, portée sur une goutte de cyanure jaune placée sur une soucoupe de porcelaine, fasse apparaître une coloration rose ; on chauffe de nouveau l'urine pendant une à deux minutes et l'on recommence l'essai jusqu'à persistance de la coloration.

Calcul des résultats. — En supposant que l'on ait opéré sur 50cc d'urine exigeant $n$cc de liqueur uranique, la quantité de Ph^2O^5, contenue dans les urines des 24 heures, (E) sera donnée par la formule :

$$p \text{ de } Ph^2O^5 = \frac{0{,}005}{50} \times n \times E.$$

En résumé, l'urine contient par litre autant de décigrammes d'anhydride phosphorique que l'on a employé de centimètres cubes de liqueur d'acétate d'urane, en opérant sur 50cc de liquide.

Dosage séparé des phosphates alcalins et terreux. — L'urine contient les phosphates acides suivants :

$$PhO^4NaH^2, \quad (PhO^4)^2CaH^4 \quad \text{et} \quad (PhO^4)^2MgH^4.$$

L'ammoniaque transforme ces sels en sels neutres, dont le premier seul reste soluble.

Aux procédés de dosage séparé des phosphates alcalins et des phosphates terreux décrits par Neubauer (1), on substitue avec avantage le suivant qui est suffisamment exact et très rapide.

A 60 ou 80 centimètres cubes d'urine, on ajoute goutte à goutte de l'ammoniaque très concentrée, jusqu'à réaction très légèrement alcaline; on laisse se tasser les phosphates terreux qui se précipitent et l'on filtre. La quantité d'ammoniaque employée est toujours assez minime pour qu'on puisse admettre que l'urine n'est en rien diluée. On refait un nouveau dosage sur 5^{cc} de liquide filtré, lequel ne renferme que les phosphates alcalins. Si cette seconde opération exige l'emploi de n' centimètres cubes d'acétate d'urane, le litre d'urine renferme n' décigrammes de Ph^2O^5 combiné aux alcalis et par suite $n - n'$ combinés aux terres.

Observations. — 1° L'albumine étant précipitée par l'acétate d'urane, on doit toujours l'éliminer par la coction, avant de procéder au dosage des phosphates dans les urines albumineuses.

2° M. Cazeneuve a montré que l'addition d'ammoniaque à l'urine augmentait la quantité de phosphates alcalins aux dépens des sels terreux, ainsi qu'il résulte de l'une des formules proposées pour l'explication de ce fait :

$$3(PhO^4)^2CaH^4 + 12AzH^3, OH = (PhO^4)^2Ca^3 + 4PhO^4(AzH^3)^3 + 12H^2O,$$

et que, par suite, le procédé de séparation des sels terreux et alcalins par le réactif ne comportait aucune précision.

3. DOSAGE DE L'ACIDE SULFURIQUE.

Le soufre existe dans l'urine sous trois formes : sulfates proprement dits, dérivés sulfoconjugués dont la proportion est à celle des premiers, en moyenne, comme 1 est à 10; et enfin, cystine et taurine (traces). On peut déterminer successivement les proportions de ces trois groupes de composés par la méthode de Baumann (2) légèrement modifiée.

1° *Soufre des sulfates.* — On précipite à la température du bain-marie, par le chlorure de baryum, 200^{cc} d'urine additionnés de 20^{cc} de liqueur acétique du dosage des phosphates. Le précipité de sulfate de baryum est recueilli sur un filtre, lavé, calciné et pesé. Son poids, défalcation faite des cendres du filtre, multiplié par 0,4204 indique la quantié de SO^4H^2 et par 0,34325, celle de SO^3.

2° *Soufre des dérivés sulfoconjugués.* — Le liquide filtré de l'opération précédente, réuni aux eaux de lavage du précipité barytique, est porté à l'ébullition, après addition d'un excès d'acide chlorhydrique, destiné à mettre en liberté l'acide sulfurique des combinaisons organiques. On obtient un nouveau précipité de sulfate de baryte qu'on traite comme le premier.

(1) Neubauer et Vogel, *Anal. des urines*, trad. française, p. 249.

(2) Baumann, *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, t. I, p. 70, et *Zeitschr. f. analyt. Chem.*, t. XVII, p. 122.

3° *Soufre provenant de la cystine et de la taurine.* — On reprend 200^{cc} d'urine qu'on traite à chaud par le mélange oxydant de chlorate de potassium et d'acide chlorhydrique, puis par le chlorure de baryum. On obtient un précipité de sulfate de baryum, renfermant tout le soufre contenu primitivement dans l'urine; on en défalque la somme des poids des précipités des opérations 1° et 2°, ce qui donne, comme reste, le sulfate provenant des composés organiques, tels que cystine et taurine, qu'on ne peut songer à doser isolément vu leur trop minime proportion.

On voit donc que dans ce procédé tous les résultats se trouvent exprimés en anhydride sulfurique SO^3 de provenances diverses.

La méthode volumétrique des précipitations fractionnées, indiquée par Neubauer, ne peut être recommandée à cause des manipulations très délicates qu'elle exige et d'une complication tout aussi grande que la détermination directe par les pesées.

4. DOSAGE DU CALCIUM.

Principe. — La chaux est complètement précipitée par l'oxalate ammonique, en présence du chlorure ammonique, dans un milieu d'acides organiques.

1er *Procédé volumétrique.* — 200^{cc} d'urine sont additionnés de 20^{cc} de liqueur acétique des phosphates, de façon à substituer l'acide acétique aux acides minéraux qu'elle renferme, puis de chlorure et d'oxalate d'ammonium en quantité suffisante. Le précipité recueilli après 10 heures, sur un filtre, est lavé à l'eau chaude et incinéré. On conserve le liquide filtré et les eaux de lavage pour le dosage de la magnésie. On dose ensuite la chaux devenue en partie caustique, au moyen d'une liqueur titrée d'acide chlorhydrique ou azotique.

2e *Procédé pondéral.* — Le résidu de la calcination de l'oxalate de chaux de l'opération précédente est humecté d'acide sulfurique pur, ou d'une solution de sulfate d'ammonium concentrée (Schroeter), évaporé et chauffé au rouge. Du poids de sulfate de calcium formé, défalcation faite des cendres du filtre, il est facile de déduire la quantité de chaux CaO contenue dans les 200^{cc} d'urine, en multipliant ce poids par 0,41154.

5. DOSAGE DU MAGNÉSIUM.

Principe. — La magnésie est précipitée de ses solutions, à l'état de phosphate ammoniaco-magnésien, par l'addition de phosphate de sodium et d'ammoniaque.

1er *Procédé volumétrique.* — Les eaux-mères de la précipitation de la chaux sont traitées par un léger excès d'ammoniaque et abandonnées pendant 5 à 6 heures. Le précipité de phosphate ammoniaco-magnésien est recueilli sur un filtre, lavé avec de l'eau ammoniacale au 1/3, redissout dans l'acide acétique et soumis à un dosage par l'acétate d'uranium. La quantité trouvée de Ph^2O^5, multipliée par 0,563, donne le poids correspondant de magnésie pure MgO.

2e *Procédé pondéral.* — Le précipité de phosphate ammoniaco-magnésien,

calciné et transformé en pyrophosphate de magnésium, dont le poids est multiplié par 0,36036, donne la quantité correspondante de magnésie.

6. DOSAGE DU POTASSIUM ET DU SODIUM.

Au procédé pondéral, on peut substituer avec avantage la méthode mixte suivante :

On précipite CaO par l'oxalate d'ammonium et l'on filtre; le liquide est évaporé et le résidu calciné. On redissout ce dernier dans l'eau, on ajoute du chlorure de baryum sans excès, puis de l'eau de baryte et l'on porte ébullition; le liquide filtré est débarrassé du baryum par le carbonate d'ammonium ammoniacal. On filtre à nouveau, on concentre dans une capsule de platine, on acidule par de l'acide chlorhydrique, on évapore, on calcine au rouge sombre pour éliminer les sels ammoniacaux et l'on pèse. On obtient ainsi la somme des chlorures de potassium et de sodium P. On dose le chlore Cl du résidu par la volumétrie; les poids respectifs des deux métaux sont donnés par les formules :

$$Na = (2,1029 \times Cl - P)3,6288 \times 0,3939,$$
$$K = [P - (2,1029\,Cl - P)3,6288 \times 0,3939]0,52467.$$

7. DOSAGE DE L'AMMONIAQUE.

Principe. — La chaux éteinte, mélangée à l'urine, en déplace peu à peu toute l'ammonaique à la température ordinaire, sans hydrater l'urée.

Manuel opératoire. — Sous une cloche rodée, fixée sur une plaque de verre, on dispose un cristallisoir dans lequel on met 100^{cc} d'urine filtrée, débarrassée de mucus qu'on mélange avec 10^{cc} de lait de chaux; au-dessus de l'urine on met une capsule contenant 10^{cc} d'acide sulfurique titré, on ferme hermétiquement et on l'abandonne au repos durant 48 heures, pendant lesquelles l'ammoniaque de l'urine est déplacée et absorbée au fur et à mesure par l'acide. Un dosage acidimétrique différentiel donne la quantité d'acide neutralisé et par suite celle de l'ammoniaque correspondante (Schlœsing).

Pour éviter l'influence des matières colorantes et extractives dont la décomposition, quelquefois très rapide dans certaines urines pathologiques, vient augmenter les résultats, Neubauer conseille de les éliminer au préalable par un sel de plomb. On précipite complètement 150^{cc} d'urine par le sous-acétate de plomb, on complète à 300^{cc} avec de l'eau distillée et l'on filtre; on opère ensuite comme précédemment sur 200^{cc} du liquide qui représentent 100^{cc} d'urine.

8. DOSAGE DU FER.

Le dosage du fer se fait le mieux par le procédé à l'hyposulfite décrit page 291 ; on opère sur 200^{cc} d'urine, qu'on évapore à sec dans une capsule de platine et dont on incinère le résidu. Les cendres sont reprises par l'eau et la solution

réduite par la liqueur titrée d'hyposulfite dont il faut n' centimètres cubes. La quantité de fer contenue dans l'émission des 24 heures (E) est donnée par la formule

$$p \text{ de fer} = \frac{0{,}001 \times 10}{n} \times n' \times \frac{E}{200}.$$

§ III. — DOSAGE DES ÉLÉMENTS ORGANIQUES NORMALEMENT CONTENUS DANS L'URINE.

Les matières organiques contenues normalement dans les urines sont constituées principalement par de l'urée, de l'acide urique et de la créatinine, à côté desquels on trouve toujours, mais en quantité très minime, des composés que l'on réunit sous la rubrique générale de matières extractives.

A. DOSAGE DE L'URÉE.

De toutes les matières contenues dans les urines, la plus importante est sans contredit l'urée. Le nombre des procédés de dosage de ce corps indiqués jusqu'ici, la variété des méthodes, la difficulté d'arriver à un dosage à la fois exact et rapide, font de cette question l'une des plus intéressantes de la chimie analytique des urines. Nous passerons ces procédés en revue, en insistant sur les plus rapides, et nous ferons suivre leur description d'une appréciation de leur valeur relative, de façon à guider le chimiste dans le choix de la méthode à adopter suivant le but qu'il se propose.

Les divers procédés de dosage de l'urée se rattachent tous à l'une des réactions suivantes : 1° décomposition de l'urée en Az et CO^2 par les hypochlorites et les hypobromites alcalins; 2° précipitation par l'azotate mercurique; 3° décomposition en Az et CO^2 par l'acide azoteux; 4° hydratation et transformation en carbonate par les bases ou les acides.

1re MÉTHODE. — **Dosage de l'urée par les hypochlorites et les hypobromites alcalins.**

Principe. — L'urée est décomposée en Az et CO^2 par les hypochlorites à chaud (Davy (1), Lecomte (2) et par les hypobromites à froid (Knop) (3), d'après les formules :

$$CH^4Az^2O + 3ClONa = 3NaCl + CO^2 + Az^2 + 2H^2O;$$
$$CH^4Az^2O + 3BrONa = 3NaBr + CO^2 + Az^2 + 2H^2O.$$

Il suit de là que l'acide carbonique et l'azote devraient se dégager tous deux,

(1) Davy, *J. f. prakt. Chem.*, t. LXIII, p. 188.
(2) Lecomte, *C. R. Acad.*, t. XLVII, p. 237, 1858.
(3) Knop, *Chemisch. Centralbl.*, 1860, p. 214; 1870, p. 132 et 294.

mais comme le réactif contient un excès de base, l'azote seul est éliminé. Théoriquement 1 gramme d'urée donne 371^{cc},17 de gaz à 0° et 760^{mm}. Dans le procédé de Lecomte, aujourd'hui abandonné, on n'obtient que 340^{cc}, et Hüfner lui-même (1), en employant l'hypobromite, n'a encore obtenu que 354^{cc},33 d'azote. Les différences constatées entre le volume théorique et celui qu'on obtient réellement seraient dues, suivant Feuton (2) à la production d'une certaine quantité d'acide cyanique :

$$2\,CH^4Az^2O + 2\,ClO\,Na + 2\,Na\,HO = 2\,C\,AzO\,Na + NaCl + Az^2 + H^2O$$

dont on éviterait la formation en ajoutant aux solutions d'urée une quantité dix fois égale de sucre de canne et de glucose (Méhu) (3), Fauconnier) (4), ce qui permettrait d'obtenir les 371^{cc} d'azote théorique. Ce dernier fait est contesté, du moins en partie, par Yvon et Jay (5). On doit cependant en tenir compte pour les urines de diabétiques avec lesquelles on obtiendra plus d'azote qu'avec une urine non sucrée.

Les procédés dans lesquels on applique la réaction de Knop sont très nombreux; une foule d'appareils ont été imaginés, tous plus ou moins ingénieux, donnant de bons résultats quand on sait s'en servir. Nous citerons principalement ceux de Hüfner, d'Yvon modifié par Méhu, Magnier de la Source et Dupré, de Régnard, de Thiéry, de Greene, modifié par Doremus et Marshall (6), etc. Mais nous n'indiquerons avec quelques détails que le procédé d'Yvon applicable au laboratoire, et celui d'Esbach, que le clinicien peut utiliser lui-même au lit du malade.

α. Procédé Yvon (7).

Appareil. — Tube de 1 centimètre de diamètre intérieur, divisé au 1/4 de sa longueur en deux parties par un robinet; la partie supérieure, plus petite, porte une graduation en dixièmes de centimètres cubes à partir du robinet et peut contenir 12 à 15^{cc} de liquide; la partie inférieure, également graduée en dixièmes, jusqu'à 16^{cc}, présente une capacité d'environ 35^{cc}.

L'appareil plonge dans une cuve à mercure profonde.

Réactif. — Le réactif peut être préparé à divers degrés de concentration et doit être renouvelé assez fréquemment, à cause de sa décomposition. Le liquide se décolore et doit par conséquent être conservé en vase bien clos et à l'abri de la lumière.

Nous préférons la formule suivante, qui donne un hypobromite concentré :

Brome	10	grammes
Soude de D = 1,32	70	—
Eau	100	—

(1) Hüfner, *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, t. I, p. 350.
(2) Feuton, *J. of the Chem. Societ.*, t. XXXIII, p. 102.
(3) Méhu, *Bull. Soc. chim.*, t. XXXIII, p. 410.
(4) Fauconnier, *Bull. Soc. chim.*, t. XXXIII, p. 102.
(5) *Bull. Soc. chim.*, t. XXXIII, p. 105; t. XXXIV, p. 80 et 632.
(6) *Journ. de chim. et de pharm.* 16 janvier 1887.
(7) Yvon, *C. r. de la Soc. de biolog.*, 1872, p. 217, et *Bull. de la Soc. chim. de Paris*, t. XIX, p. 3.

Manuel opératoire. — La partie inférieure du tube d'Yvon étant remplie de mercure, on verse dans la plus petite branche 1^{cc} d'urine qu'on fait passer ensuite sous le robinet; on lave avec 1 ou 2^{cc} de solution de potasse qu'on réunit à l'urine; puis, le robinet fermé, on verse dans la petite branche 7 à 8^{cc} d'hypobromite dont on fait passer la majeure partie dans la grande branche en soulevant le tube pour empêcher le passage du gaz par le robinet. On ferme et on agite. Quand il n'y a plus de dégagement de bulles gazeuses, et que le liquide reste coloré en jaune, preuve de la présence d'un excès de réactif, on porte le tube fermé par le bas dans une longue éprouvette pleine d'eau, et l'on mesure le volume du gaz en établissant l'égalité de pression et observant la température de l'eau (t) et de la pression barométrique (H).

Calcul. — Le poids d'urée de l'émission totale des 24 heures (E) est calculé à l'aide de la formule suivante dans laquelle le volume d'azote (v) est ramené à 0 et 760, h étant la tension de la vapeur d'eau à la température t :

$$P = v\frac{(H-h)}{760}\times\frac{1}{1+0{,}003665\,t}\times\frac{1}{354{,}3}\times E.$$

Si l'urine était sucrée, on devrait, suivant Méhu, employer la nouvelle formule

$$P = v\frac{H-h}{760}\times\frac{1}{1+0{,}003665\,t}\times\frac{1}{371{,}2}\times E.$$

Le Dr G. Frutiger (1) a porté à l'appareil Yvon une modification qui consiste à supprimer la cuve à mercure. Il dispose à cet effet à la partie inférieure du tube, à des niveaux différents, deux tubulures latérales opposées. Celle du bas est reliée à l'aide d'un tube en caoutchouc à une éprouvette remplie de mercure susceptible de se mouvoir de bas en haut et de faire entrer le mercure dans l'appareil; celle du haut communique par un autre tube en caoutchouc avec un tube ouvert fixé solidement contre la burette. Cette dernière porte enfin à son extrémité un bouchon à travers lequel passe un tube de verre qu'on peut ouvrir et fermer à volonté afin de régler l'écoulement de l'hypobromite et de l'eau de lavage.

β. Procédé Esbach (2).

Appareils. — 1) Une cloche à gaz graduée en dixièmes de centimètres cubes, de 1 centimètre de diamètre intérieur et d'une capacité totale de 30^{cc};

2) Une pipette de 1 à 2^{cc};

3) Un vase quelconque, un peu large, pouvant contenir 2 litres d'eau.

Réactif. — Le même que pour le procédé Yvon.

Manuel opératoire. — Dans la cloche tenue verticalement, l'orifice dirigé vers le haut, on verse successivement et sans mélanger les liquides, d'abord 6^{cc} d'hypobromite, puis 8^{cc} environ d'eau; on lit le volume total occupé (V); on verse ensuite 1^{cc} d'urine, on ferme avec le pouce ou avec tout autre système *ad hoc*,

(1) *Journ. de chim. et de pharm.* 18 mars 1887.

(2) Esbach, *C. r. de la Soc. de biolog.*, 1873, et brochure sur *Uréomètre simplifié et Baroscope à gaz*, Paris, 1873, chez Brewer.

et l'on agite en inclinant alternativement le tube dans un sens et dans l'autre, doucement, pour faire tomber la mousse. Dès qu'il ne se dégage plus de bulles gazeuses, le liquide devant toujours garder une teinte jaune, on le débouche sous l'eau du vase large, enfonçant le tube droit ou incliné, de façon à faire coïncider le niveau intérieur et extérieur; on bouche avec le doigt, on sort de la cuve, on retourne et l'on débouche de nouveau; on lit le volume du liquide réuni et restant (V'). Avant la réaction on avait un volume exprimé par V + 1, s'il ne reste dans le tube que V', la différence (V + 1) — V' représente l'eau chassée hors du tube par un égal volume d'azote provenant de la décomposition de l'urée.

Calcul. — On applique la formule indiquée dans le procédé Yvon, modifiée ainsi qu'il suit :

$$P = [(V+1) - V'] \times \frac{H - h}{760} \times \frac{1}{1 + 0{,}003665\,t} \times \frac{1}{354{,}3} \times E.$$

Observation. — Un certain nombre des substances azotées qui se trouvent dans l'urine subissent également comme l'urée l'action de l'hypobromite, et dégagent une partie de leur azote; tels sont l'acide urique, la créatine, la créatinine, la guanine et même l'albumine. Les auteurs ne sont pas d'accord sur les quantités respectives de gaz provenant de ces divers composés, aussi doit-on chercher à les éliminer, si faire se peut, avant de doser l'urée. On se sert, dans ce but, de sous-acétate de plomb qui élimine l'acide urique, les matières colorantes, les matières extractives et l'albumine, si l'urine en contient.

La décomposition de la créatinine et de la guanine qui restent dans le liquide est assez lente pour ne pas influencer sensiblement les résultats.

Dans une éprouvette graduée, étroite, on verse 10^{cc} d'urine, puis du sous-acétate de plomb en léger excès (1 à 2^{cc}); on complète exactement à 20^{cc}, on agite et l'on filtre. En opérant dès lors sur 2^{cc} de filtratum qui représentent 1^{cc} d'urine, les formules précédemment indiquées restent applicables.

Baroscope d'Esbach (1). — Pour éviter les corrections de température et de pression que l'on doit toujours faire dans les mesures de gaz, Esbach a imaginé un petit appareil qu'il nomme baroscope à colonne mercurielle, et qui se compose d'un tube étroit recourbé en U, ouvert à l'une de ses extrémités, et terminé à l'autre par une ampoule volumineuse; dans la courbure du tube, se meut une colonne de mercure, surmontée du côté de l'ampoule pleine d'air, par une courte colonne d'eau; la branche correspondant à l'ampoule porte, de haut en bas, une graduation allant de 70 à 62. L'appareil donne un chiffre qui est la résultante des trois influences modificatrices du volume d'un gaz mesuré sur l'eau, savoir : la pression atmosphérique, la température et la tension de la vapeur d'eau.

L'appareil est accompagné d'une table à double entrée dont l'une, verticale, correspond aux volumes d'azote dégagé par 1^{cc} d'urine et exprimés en dixièmes, et l'autre, horizontale, porte les chiffres du baroscope de 62 à 70.

Les chiffres de la table donnent immédiatement le poids de l'urée, par litre d'urine, correspondant au volume d'azote dégagé sous l'influence de l'hypobromite de soude.

(1) Esbach, *loc. cit.*, et baroscope à mercure, nouveau modèle, Paris, 1877 (construit chez Brewer).

2e MÉTHODE. — **Dosage de l'urée par l'azotate mercurique. Procédé Liebig.**

Ce procédé, imaginé par Liebig, en 1853, a subi depuis cette époque diverses modifications dont les principales sont dues à Pflüger (1). C'est donc le procédé de Liebig, modifié par Pflüger qui va être décrit.

Principe. — L'urée en solution traitée par le nitrate mercurique, donne naissance, suivant le degré de concentration, à des composés insolubles qui renferment tous $2CH^4Az^2O\,(AzO^3)^2Hg$ uni à 1, 2 ou 3 molécules de HgO. En solution très étendue et à froid, on obtient toujours le composé à 3 molécules d'oxyde de mercure, sous forme d'un précipité blanc cristallin qui prend naissance en vertu de la réaction :

$$2\,CH^4Az^2O + 4\,(AzO^3)^2Hg + 3\,H^2O = 2\,CH^4Az^2O\,(AzO^3)^2Hg,\, 3\,HgO + 6\,AzO^3H.$$

Ce précipité n'est pas coloré en jaune par les alcalis qui peuvent servir de réactif indicateur; ces derniers, au contraire, précipitent en jaune le nitrate mercurique.

De même que l'urée, les phosphates, sulfates et carbonates précipitent également le sel mercurique. L'albumine, l'ammoniaque et le carbonate d'ammonium qu'on peut rencontrer dans une urine, se trouvent dans le même cas. La présence des chlorures présente un inconvénient, car ces derniers transforment l'azotate mercurique en chlorure qui ne précipite pas l'urée; de sorte que le réactif, versé dans une solution contenant à la fois de l'urée et du chlorure de sodium, ne précipitera l'urée que lorsqu'on en aura ajouté une quantité suffisante pour transformer tout le chlorure en sublimé corrosif. Enfin la combinaison insoluble d'urée et de mercure est soluble dans l'acide azotique; et comme sa réaction génératrice met en liberté de l'acide nitrique, on doit assurer la neutralité du liquide. Ici encore, comme dans le dosage des phosphates, il faut que la liqueur mercurielle contienne non seulement la quantité de sel suffisante pour précipiter un poids donné d'urée, mais encore l'excès nécessaire pour faire apparaître la coloration jaune finale.

Préparation des solutions. — 1° *Solution d'urée.* — 2 grammes d'urée pure desséchée sur l'acide sulfurique, dissous dans 100cc d'eau; 1cc = 0gr,02 d'urée.

2° *Liqueur mercurielle.* — Elle doit précipiter 10 milligrammes d'urée par centimètre cube, et renfermer par litre, outre les 72 grammes d'oxyde mercurique nécessaires pour précipiter 10 grammes d'urée, un certain excès, soit 5gr,2, suffisant pour l'apparition de la coloration jaune finale (Liebig et Pflüger). On dissout donc 77gr,2 de HgO pur dans l'acide nitrique; on évapore en consistance sirupeuse, puis on étend d'eau pour compléter le litre, en redissolvant au besoin le sel basique qui peut se former dans la quantité exactement nécessaire d'acide azotique dont il faut éviter tout excès : on obtient ainsi une solution dont 1cc correspond à 0gr,1 d'urée.

3° *Liqueur barytique.* — Mélange de solutions saturées de nitrate de baryum et de baryte caustique, exemptes de chlorures, dans la proportion de 1 pour 2.

(1) Pflüger, *Ses archives*, t. XXI, p. 248, 1880, et *Ztschr. f. analyt. Chem.*, t. XIX, p. 375.

4° *Liqueur sodique.* — Solution de 53 grammes de carbonate de soude pur et calciné par litre.

Essai de la liqueur mercurielle. — A 10^{cc} de solution d'urée à 2 p. 100 qui doivent exiger pour leur précipitation complète $\frac{0,02 \times 10}{0,01} = 20^{cc}$ de liqueur mercurielle, on ajoute 19^{cc},7 de cette dernière; on neutralise exactement par du carbonate de soude, puis on ajoute, par dixièmes de centimètre cube, l'azotate mercurique, sans neutraliser davantage, et l'on porte chaque fois une goutte du mélange sur une goutte de carbonate de soude placé sur un verre noir, jusqu'à ce que l'on aperçoive nettement une coloration jaune produite au moment du contact. S'il faut moins de 20^{cc} de liqueur mercurielle, on étend d'eau; s'il en faut plus, on ajoute un peu de nitrate mercurique concentré.

Manuel opératoire : Préparation de l'urine. — Si l'urine est albumineuse, on en chauffe 100^{cc} au bain-marie, dans une fiole presque fermée, pour éviter l'évaporation, après avoir ajouté quelques gouttes d'acide acétique. On sépare par filtration l'albumine coagulée en flocons, et l'on continue comme avec l'urine ordinaire.

On mélange 50^{cc} d'urine et 50^{cc} de liqueur barytique, et l'on filtre pour séparer les sulfates, phosphates et carbonates. On a déterminé sur 10^{cc} d'urine le volume v de liqueur titrée argentique nécessaire pour en précipiter tout le chlore. On prend 60^{cc} du mélange barytique filtré, représentant 30^{cc} d'urine et l'on y ajoute 3 v de liqueur argentique, on agite fortement et l'on filtre. Du liquide limpide obtenu on prélève (20^{cc} + v), soit 10^{cc} d'urine primitive et l'on neutralise par de l'acide nitrique sans s'occuper d'un trouble léger dû au chlorure d'argent dissout dans les sels ammoniacaux.

Dosage. — Dans les (20 + v^{cc}) de mélange urinaire, neutralisé par l'acide azotique, on verse la liqueur mercurielle, et l'on distrait du liquide agité une goutte qu'on porte sur une autre goutte de bouillie étendue de bicarbonate de soude, bien exempt de chlorure, placée sur un verre noir; le mélange des deux gouttes redevient d'abord blanc, puis reste jaune quand on n'en est plus qu'à quelques dixièmes de centimètre cube du résultat final ou qu'on a légèrement dépassé cette limite. On neutralise le liquide total par la solution sodique (n^{cc}). S'il reste blanc ou ne prend qu'une teinte chair clair, on continue l'addition du sel de mercure (N^{cc}) jusqu'à coloration jaune; si le mélange neutralisé est jaune brun, on recommence l'opération sur un nouveau volume (20 + v) en versant du coup le nombre de centimètres cubes moins 1, exigé par la première opération, et l'on achève avec le carbonate neutre de soude comme réactif indicateur.

Calcul des résultats. — Le titre de la liqueur mercurielle, 1^{cc} = 0,01 d'urée, n'est exact qu'autant qu'on se place dans les conditions de dilution qu'on a observées dans sa préparation, c'est-à-dire qu'on opère sur des solutions d'urée à 2 p. 100. Si le liquide analysé contient moins de 2 p. 100 d'urée, on emploie trop de sel de mercure pour obtenir la réaction finale; s'il renferme plus de 2 p. 100, on en prend trop peu au contraire. Il faut donc faire subir au nombre de centimètres cubes de solution mercurielle employés une *correction* qu'on obtient très facilement par la règle empirique suivante due à Pflüger: le nombre

réel (X) de centimètres cubes de nitrate mercurique qui agit sur l'urée est donné par la formule :

$$X = N - (20 + v + n - N)\ 0{,}08.$$

Cette correction n'est applicable qu'autant que la quantité d'urée trouvée est comprise entre 1/3 et 4 p. 100; si le résultat est inférieur à 1/3 p. 100, il faut ajouter à l'urine un volume mesuré de la solution titrée d'urée au deux centièmes et recommencer le dosage. On étendra au contraire l'urine d'eau, quand on obtient plus de 4 p. 100 d'urée.

La quantité d'urée contenue dans l'émission totale est donnée par la formule suivante, basée sur ce fait qu'on a opéré sur le volume ($20 + v^{cc}$) de mélange barytique et argentique correspondant à 10^{cc} d'urine primitive.

$$p \text{ d'urée} = \frac{0{,}01}{10} \times X \times E.$$

En résumé, l'urine contient par litre autant de grammes d'urée que l'on a employé de centimètres cubes de liqueur mercurielle.

Observations. — 1° On peut tenir exactement compte des chlorures et simplifier l'opération en se basant sur les considérations suivantes :

$$(AzO^3)^2Hg + 2NaCl = 2AzO^3Na + HgCl^2.$$

$HgCl^2$ contient pour 200 de mercure 71 de chlore; 1^{cc} de la liqueur argentique employée au dosage des chlorures correspond par centimètre cube à $0^{gr},005$ de chlore ou à $0^{gr},01405$ de Hg qui sont contenus dans $0^{cc},197$ de liqueur mercurielle. Le dosage du chlore sur 10^{cc} d'urine exigeant v^{cc} de liqueur argentique, la correction des chlorures se fera en retranchant du nombre N de centimètres cubes de liqueur mercurielle employée pour la précipitation des 10^{cc} d'urine, le produit 0,197 v, et l'on aura

$$N' \text{ vrai} = N - (0{,}197 \times v).$$

En ce cas, l'on opérera directement sur 20 centimètres cubes du mélange barytique sans addition de solution argentique, et la formule de correction donnée par Pflüger sera modifiée comme suit :

$$X = N' - (20 + n - N')\ 0{,}08.$$

2° Au lieu de neutraliser à peu près exactement le liquide urinaire par le carbonate de soude, on peut, comme l'indique M. Schutzenberger (1), ajouter au préalable un certain volume en excès (n) d'une bouillie de carbonate de chaux précipité qui transforme en nitrate de chaux l'acide azotique au fur et à mesure de sa production.

3° On a vu précédemment que l'azotate mercurique était précipité par l'ammoniaque. Pour tenir compte de cette réaction, on fait un dosage spécial de l'ammoniaque (p. 62), et pour chaque centigramme d'AzH^3 contenu dans 10^{cc}

(1) Schutzenberger, *Chimie générale*, t. II, p. 557.

d'urine ou chaque gramme par litre, on retranche $2^{cc},6$ du nombre corrigé X de liqueur mercurielle (Feder) (1).

4° Certaines urines (fièvre typhoïde, pneumonie, ictère) donnent avec le carbonate de soude un précipité jaune quand on a à peine versé 7 à 8 centimètres cubes de nitrate mercurique; cette coloration, probablement due à la précipitation d'un pigment (Ritter) (2), loin d'augmenter par l'addition de la liqueur titrée, va en diminuant et finit par faire place à un précipité blanc; dans ce cas, on continue le dosage jusqu'à coloration jaune persistante.

5° Une autre cause d'erreur, analogue à la précédente, peut se produire avec des urines renfermant de l'iodure de potassium, par suite de la formation d'iodure mercurique rouge.

6° Les urines riches en acide hippurique donnent toujours des résultats trop élevés en urée (régime végétal); pour remédier à cet inconvénient, on élimine au préalable l'acide en question au moyen de l'azotate ferrique.

7° Indépendamment de l'urée, la créatinine, la créatine, l'allantoïne et l'acide urique sont aussi précipités par la liqueur de Liebig. Il en est de même d'un grand nombre d'amides et d'acides amidés.

3ᵉ MÉTHODE. — **Dosage de l'urée par l'acide azoteux.**

Principe. — Sous l'influence de l'acide azoteux, l'urée est décomposée en Az et CO^2; Millon a proposé, pour expliquer la réaction, la formule suivante :

$$CH^4Az^2O + 2AzO^2H = 2Az^2 + CO^2 + 3H^2O,$$

d'après laquelle il se dégagerait deux fois plus d'azote que n'en contient l'urée. Les expériences de Gréhant, Wœbler, Liebig, Ludwig, etc., prouvent que l'on n'obtient que la quantité d'azote provenant de l'urée et que le liquide contient, après la réaction, de l'ammoniaque, ce qui s'explique d'après la formule nouvelle :

$$CH^4Az^2O + AzO^2H + AzO^3H = Az^2 + CO^2 + AzO^3,AzH^4 + H^2O,$$

que nous admettrons comme la seule exacte.

Réactif. — Solution faite à froid avec 125 grammes de mercure et 168 grammes d'acide azotique de $D = 1,42$, étendue de façon à marquer 1,60 environ. Ce liquide, connu sous le nom de réactif de Millon, renferme de l'azotate de mercure mélangé à de l'acide azoteux et à de l'acide azotique.

Procédés divers. — Les procédés de dosage de l'urée basés sur l'emploi du réactif de Millon sont très nombreux et tous, sauf celui de Bouchard, exigent l'intervention de la chaleur.

Millon dose l'acide carbonique par la pesée; Gréhant extrait les gaz par la pompe à mercure et mesure les volumes d'azote et d'acide carbonique; Boymond évalue l'azote et l'acide carbonique par la pesée.

(1) Feder, *Ztschr. f. Biolog.*, t. XIII, p. 272, 1877; t. XIV, p. 178, 1878.
(2) Ritter, *Man. de chim. prat.*, p. 397.

Procédé Bouchard (1).

Dans un tube gradué, fermé par un bout et vertical, on verse 6^{cc} de réactif de Millon, du chloroforme en quantité suffisante pour le remplir jusqu'à 10 centimètres de l'ouverture, puis 2^{cc} d'urine et enfin de l'eau. Les liquides restent ainsi séparés en raison de leur différence de densité. On ferme le tube avec le doigt, on le retourne et on le débouche dans un verre plein de chloroforme. Quand le dégagement gazeux a cessé complètement, ce qui exige, quoiqu'en dise Bouchard, de 12 à 24 heures, on porte l'appareil sur une éprouvette pleine d'eau, et l'on agite pour remplacer par de l'eau le contenu primitif du tube. On absorbe l'acide carbonique par un fragment de potasse et l'on mesure le volume d'azote restant. Un gramme d'urée, traitée de cette façon, fournit $371^{cc},2$ de gaz.

Le tube de Bouchard porte une graduation spéciale qui indique immédiatement en grammes la quantité d'urée par litre d'urine, d'après la lecture du volume d'azote. Cette graduation ne mérite aucune confiance, puisqu'elle ne permet pas les corrections de température et de pression indispensables dans une expérience de cette nature. Une simple cloche, graduée en centimètres cubes et dixièmes, est préférable. Le poids d'urée sera donné par la formule déjà indiquée:

$$P = v\frac{H-h}{760} \times \frac{1}{1+0,003665\,t} \times \frac{1}{371,2} \times E.$$

Les divers procédés basés sur l'emploi du réactif de Millon présentent l'inconvénient d'exiger des appareils spéciaux tels que balance, pompes à mercure, etc.; celui de Bouchard est le seul qui soit réellement pratique, mais encore exige-t-il un temps trop considérable pour les besoins cliniques.

Remarque. — Les substances azotées autres que l'urée ne sont pas décomposées par le réactif de Millon. Les urines diabétiques, albumineuses et bilieuses n'exigent d'autre traitement préalable que la filtration.

4e MÉTHODE. — **Dosage de l'urée par transformation en carbonate d'ammonium.**

Principe. — Chauffée sous pression avec des bases ou des acides, l'urée fixe toujours une molécule d'eau et se transforme rapidement en acide carbonique et ammoniaque

$$CH^4Az^2O + H^2O = CO^2 + 2AzH^3.$$

1° Procédé Bunsen.

Bunsen chauffe l'urine pendant 3 heures à 200° avec du chlorure de baryum ammoniacal, recueille le carbonate de baryte formé dont le poids, multiplié par 0,4041, donne celui de l'urée.

2° Procédé Heintz.

Heintz traite l'urine à 200° par l'acide sulfurique concentré et dose l'ammo-

(1) Bouchard, *Tribune médicale*, numéro du 22 janv. 1874.

niaque dont 1 p. correspond à 1,77 p. d'urée; on doit tenir compte des sels ammoniacaux préexistants.

Remarque. — Dans le procédé de Bunsen, l'acide urique est précipité à l'état de sel barytique, et l'acide hippurique fournit de l'acide carbonique; il importe donc de les éliminer au préalable au moyen de l'acétate de plomb ammoniacal. La créatinine et les acides amidés donnent également du carbonate de baryte. L'allantoïne se transforme en acide oxalique. Le sucre et l'albumine elle-même dégagent abondamment de l'acide carbonique. Les résultats obtenus sont donc trop élevés et le procédé ne peut être appliqué aux urines sucrées ou albumineuses. Ajoutez à cela qu'il se forme aux dépens du verre de l'appareil du silicate de baryte dont le poids vient augmenter celui du carbonate de baryte.

Des décompositions du même genre se produisent sous l'influence de l'acide sulfurique concentré, qui dégage de l'ammoniaque, de la créatine, de l'acide oxalurique, et des matières extractives, comme l'a prouvé Heintz lui-même.

Les deux procédés de Bunsen et de Heintz sont donc loin de donner des résultats exacts, ce qui, joint à la difficulté de leur exécution, les fait à peu près complètement abandonner. Et cependant Neubauer dit que de toutes les méthodes employées par le dosage de l'urée, sauf celle de Millon dont il ne parle pas, celle de Bunsen semble donner les meilleurs résultats, tandis que Scheubs recommande le procédé de Heintz.

3° Procédé Cazeneuve et Hugounencq.

Au lieu d'employer des réactifs spéciaux, chlorure de baryum amoniacal ou acide sulfurique, pour effectuer l'hydratation de l'urée, les auteurs se servent d'un excès d'eau (1). Ils procèdent à cette transformation dans des tubes en bronze recouverts intérieurement d'une couche de platine déposée par voie électrolytique, fermés à l'aide d'un couvercle à vis et placés verticalement dans un bain d'huile à 180°. Ils opèrent sur 10^{cc} d'urine, préalablement décolorée au charbon, additionnée de 20^{cc} d'eau. Au bout d'une demi-heure de chauffe, ils laissent refroidir le tube, recueillent le liquide après lavage convenable du tube et déterminent le dosage volumétrique de l'ammoniaque avec de l'acide sulfurique normal, en se servant de l'orangé 3 ou de la phtaléine du phénol, comme réactif indicateur. Vérifié avec de l'urée pure en dissolution dans l'eau, ce procédé fournit des résultats parfaitement exacts, tandis que ceux de Liebig et d'Esbach, indiquent des nombros ou trop élevés ou trop faibles.

D'un autre côté, les principes divers qui accompagnent l'urée dans l'urine, à l'exception de la créatinine, n'exerçant aucune influence fâcheuse sur les résultats, les auteurs proposent leur méthode pour exécuter le dosage de l'urée dans l'urine avec précision.

2. DOSAGE DE L'AZOTE TOTAL.

Pour la détermination de l'azote total contenu dans l urine, les méthodes de

(1) *Journ. de chim. et de pharm.*, 15 sept. 1887, p. 248.

Dumas (décomposition par CuO avec dégagement d'Az), de Will et Warrentrapp (décomposition par la chaux sodée avec dégagement d'AzH^3) se recommandent également par l'exactitude des résultats qu'elles donnent entre des mains expérimentées.

α. Procédé Seegen-Schneider (1).

Ce procédé est une simplification de celui de Will et Warrentrapp.

Principe. — Tous les composés organiques azotés dans lesquels l'azote ne se trouve pas sous forme de produit de substitution nitré, sont décomposés par la calcination avec la chaux sodée avec dégagement total de leur Az sous forme d'AzH^3 qu'on condense dans un acide et qu'on dose.

Liqueurs titrées : 1° Liqueur sulfurique. — Solution de 49 grammes d'acide sulfurique pur et monohydraté (1/2 molécule) étendue exactement au litre. — $1^{cc} = 0^{gr},049\ SO^4H^2 = 0,^{gr}014$ Az, d'après la formule :

$$\underbrace{SO^4H^2}_{98} + \underbrace{2\ AzH^3}_{28} = SO^4(AzH^4)^2.$$

2° *Liqueur potassique.* — Solution concentrée de potasse bien décarbonatée, étendue de telle façon qu'elle soit exactement neutralisée volume à volume par la liqueur sulfurique. $1^{cc} = 0^{gr},014$ Az.

Manuel opératoire. — Dans une fiole en forme de matras d'essayeur en verre vert, de 150^{cc} de capacité et munie d'un col de 20 centimètres de long, on introduit une hauteur de $1^{cm},5$ de chaux sodée calcinée; on verse par-dessus 5^{cc} d'urine neutralisée par du carbonate de soude; on ferme avec un bouchon de caoutchouc percé de deux trous à travers l'un desquels pénètre un tube effilé fermé en haut; l'autre est muni d'un tube de verre relié à un tube à boules de Will contenant 10^{cc} de liqueur sulfurique. La fiole est chauffée dans un bain de sable, le col enveloppé d'un manchon de laiton pour éviter la condensation de la vapeur d'eau. Quand le dégagement d'ammoniaque a cessé, on casse la pointe du tube effilé et l'on fait passer par aspiration un courant d'air dans tout l'appareil pour entraîner toute trace d'ammoniaque dans l'acide sulfurique.

L'opération terminée, on réunit dans un verre les 10^{cc} d'acide avec les eaux de lavage du tube de Will, et on les titre avec la solution de potasse.

Calcul. — Soit n le nombre de centimètres cubes de solution potassique employée pour neutraliser les 10^{cc} d'acide qui, s'ils n'avaient pas condensé l'ammoniaque des 5^{cc} d'urine, eussent exigé 10^{cc} de potasse. La quantité d'azote de l'émission totale est donnée par la formule :

$$p.\ d'Az = \frac{0,014}{5} \times (10 - n) \times E.$$

β. Procédé Kjeldahl (2).

Dans ce nouveau procédé qui est d'une application générale au dosage de

(1) Seegen, *Virchow's Archiv.*, t. XXIX, p. 564, 1864.

(2) Kjeldahl, *Berliner Berichte d. d. Chem. Gesell.*, t. XVI, p. 2774; t. XVIII, p. 297 et 462.

l'azote organique total, on calcine l'urine au contact d'acide sulfurique pur et d'acide de Nordhausen, tous deux bien exempts d'ammoniaque. Les composés azotés de l'urine sont transformés en ammoniaque qui reste unie à l'excès d'acide, et qu'on dose en la déplaçant par de la soude et la recueillant dans un acide titré.

Réactifs. — 1° Acide sulfurique pur de densité 1,84.

2° Acide de Nordhausen pur. L'acide du commerce est le plus souvent fortement ammoniacal; pour l'obtenir à l'état de pureté, on recueille dans un certain volume d'acide sulfurique anglais pur tout l'anhydride qui se dégage de 2 volumes d'acide de Nordhausen ordinaire, chauffé jusqu'à ce que rien ne cristallise plus dans le col de la cornue; ou encore on dissout 1 p. d'anhydride sulfurique, produit aujourd'hui commercial, dans 3 p. d'acide anglais, ce qui donne un réactif deux fois plus riche que l'acide ordinaire du commerce.

3° Solution de soude caustique de densité 1,30.

Opération. — Dans un ballon de 250 à 300 centimètres cubes de capacité, on introduit 10^{cc} d'acide sulfurique pur et 10^{cc} d'acide de Nordhausen, puis 5^{cc} d'urine; on chauffe ensuite sur une toile métallique jusqu'à dégagement complet d'eau et de produits gazeux. Le liquide noircit d'abord, puis devient brun; on diminue la flamme de chauffe et l'on continue jusqu'à coloration jaunâtre. On laisse refroidir, on étend à 150^{cc}, on refroidit de nouveau, puis l'on ajoute de 80 à 100^{cc} de soude et l'on distille en condensant l'ammoniaque dans de l'acide sulfurique titré.

Remarques. — Les liqueurs volumétriques employées sont les mêmes que celles qui servent dans le procédé à la chaux sodée. Les calculs sont conduits d'une façon identique.

Le meilleur appareil pour recueillir toute l'ammoniaque par la distillation, sans entraîner trop d'eau, est celui que Th. Schlœsing (1) emploie pour extraire ce gaz des eaux météoriques, de rivière, etc., et que l'on trouve aujourd'hui tout agencé dans le commerce. Il se compose essentiellement d'un ballon contenant le liquide analysé, suivi d'un long serpentin à reflux communiquant par l'extrémité supérieure avec un réfrigérant de Liebig en verre, verticalement placé et dont l'extrémité inférieure débouche dans la solution sulfurique destinée à condenser l'ammoniaque. Un entonnoir à robinet placé en haut du réfrigérant permet d'éviter l'absorption de la solution acide et de laver le tube central avec de l'eau distillée à la fin de l'opération.

Critique des résultats. — On a toujours reproché au procédé Seegen-Schneider de donner moins d'azote que la calcination dans un tube étroit sur la grille à analyse ordinaire, ce qui tient à la difficulté de porter au rouge tout le contenu du ballon; la preuve en est que, presque toujours, il passe dans le liquide sulfurique des produits aromatiques qui le colorent en rose ou en rouge.

Pour nous rendre compte de la valeur relative des deux procédés décrits précédemment, nous avons opéré sur 5 centimètres cubes de la même urine par les deux méthodes, et en outre avec le tube à combustion ordinaire, en introduisant dans ce dernier le mélange intime de chaux sodée avec le produit de l'évapora-

(1) Grandeau, *Anal. des mat. agric.*, 1883, p. 545.

tion de 5^{cc} d'urine sur 10 grammes de plâtre contenant 0,5 d'acide oxalique, destiné à fixer l'ammoniaque qui pourrait se dégager pendant la dessiccation (Washburne). Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau suivant :

QUANTITÉ D'AZOTE EN GRAMMES PAR LITRE :

	TUBE A COMBUSTION	SEEGEN-SCHNEIDER	ACIDE SULFURIQUE fumant
Première urine.	3,361 3,532 »	2,994 3,157 »	3,364 3,364 3,589
Moyenne.	3,448	3,076	3,439
Deuxième urine.	10,317 10,246	8,385 »	10,288 10,315
Moyenne.	10,281	8,385	10,301

Ces chiffres prouvent sans conteste la supériorité du procédé à l'acide sulfurique sur la méthode de Seegen-Schneider, car les résultats du premier concordent parfaitement avec ceux de la calcination dans le tube à analyse organique par la méthode de Will et Warrentrapp. Ils montrent encore l'insuffisance absolue de la méthode Seegen quand le liquide analysé est riche en substances azotées, alors même qu'on a soin de mettre un grand excès de chaux sodée, ce qui ne fait d'ailleurs qu'augmenter la difficulté de la calcination.

3. COMPARAISON DES MÉTHODES DE DOSAGE DE L'URÉE ENTRE ELLES ET AVEC CELLE DE L'AZOTE TOTAL (1).

Les procédés de dosage de l'azote total de Dumas et de Will et Warrentrapp sont les seuls qui, employés convenablement, donnent des résultats exacts. Avec le procédé de Seegen-Schneider, on obtient un peu moins d'azote qu'avec celui de Will qui est cependant basé sur le même principe. Schröder a trouvé dans l'urine humaine 98 à 99, et Kniering dans celle du chien, 93 à 99 par le procédé Seegen, et 100 par celui de Will.

Dans le dosage de l'urée par la liqueur de Liebig, on précipite, outre l'urée, d'autres éléments azotés de l'urine, tels que la créatinine, l'allantoïne, etc..., et l'on a cru pouvoir calculer l'azote total avec une exactitude relative, au moyen de l'urée déterminée expérimentalement. Voit a obtenu comme moyenne de 17 analyses par la méthode de combustion 9^{gr},31 d'azote total au lieu de 9,4 calculé avec l'urée. Parkes et Wollowicz ont trouvé une excrétion de 16,46 d'azote en 24 heures comme moyenne de 26 analyses, au lieu de 16,34 fournis par le calcul en suite du dosage de l'urée. Cependant Schenk n'a plus constaté cette corréla-

(1) Voir Neubauer et Vogel, trad. française, 1877, p. 300, et 8e édit., 1881, p. 282.

tion. Sur 100 d'azote existant réellement dans l'urine, le procédé Liebig a donné à Parkes 92,85 en moyenne; à Parkes et Wollowicz 99,29; à Schenk 99,3; à Fick et Wislicenus 82,2 à 100; à Voit chez les chiens 96,7 et 100,8 chez l'homme; à Grüber chez les chiens 99,9 et plus tard tantôt plus, tantôt moins de 100: tous ces chiffres représentant la moyenne d'un grand nombre d'expériences.

Ces résultats prouvent que si la méthode de Liebig appliquée au dosage de l'azote total ne donne que des valeurs approximatives, les différences constatées entre les dosages directs de l'azote et les quantités calculées à l'aide de l'urée s'effacent peu à peu dans une longue série d'expériences comme celles qu'on peut entreprendre sur les métamorphoses régressives de la matière dans l'économie animale. En tout cas, les erreurs sont toujours de même ordre entre les mains d'un même expérimentateur; et si l'exactitude des résultats n'est que relative comme valeur absolue, elle est presque absolue après comparaison.

Le procédé de Knop donne moins d'urée que celui de Liebig, ce qui se conçoit très facilement après la critique que nous avons faite des deux procédés, le premier donnant le chiffre d'urée qui est certainement le plus rapproché de la vérité. Washburne a obtenu avec l'hypobromite 98,48 p. 100 de l'azote dosé directement; Schleich appliquant l'appareil d'Hüfner à trois séries de recherches a trouvé 93,7, 94,1, 96,2 p. 100 d'azote calculé par la méthode Liebig.

La méthode de Bunsen fournit aussi moins d'azote que la détermination directe; ainsi au lieu de 100 d'azote fourni par le procédé de Seegen, Gœhtgens n'a trouvé que 95,5; mais le chiffre est remonté à 101,4 en tenant compte de l'ammoniaque préexistante, ce qui prouve bien la décomposition par la baryte d'autres substances que l'urée. Suivant Salkowski, l'urine de chien et de lapin fournit à l'aide du procédé Bunsen plus d'acide carbonique et par suite plus d'azote qu'il en existe en réalité.

En résumé, les diverses méthodes de dosage de l'urée donnent aussi bien entre elles qu'avec la détermination directe de l'azote, des différences quelquefois considérables, différences manifestes surtout entre le procédé Liebig et celui de Knop. Dans le cas de recherches précises sur les métamorphoses de la matière, dans l'économie animale, on ne devra donc appliquer que le dosage spécial de l'azote, tandis que dans une série de recherches faites de longue haleine, sur un même individu, pour suivre la marche des variations dans l'excrétion des produits de déchets azotés, on pourra se contenter des méthodes rapides, en particulier de celle de Knop avec traitement préalable de l'urine par le sous-acétate de plomb pour le dosage spécial de l'urée et de celle de Liebig pour l'azote total.

B. DOSAGE DE L'ACIDE URIQUE.

L'acide urique $C^5H^4Az^4O^3$ perd de l'azote sous l'influence de l'hypobromite de soude. La quantité théorique qu'il devrait donner est de $265^{cc},12$ par gramme; mais le volume réel obtenu varie avec les expérimentateurs, de 1/20 (Esbach) à la moitié (Magnier de la Source) du volume théorique. On ne peut donc utiliser sérieusement cette décomposition pour doser l'acide urique en traitant successivement par l'hypobromite l'urine primitive et cette même urine traitée au

préalable par un sel de plomb, puisque la différence dans les volumes gazeux des deux opérations correspond à une quantité absolument indéterminée d'acide urique.

D'autre part, l'urine ne contenant en général qu'une très faible quantité de cet acide (de 0,5 à 0,8 en 24 heures à l'état normal), on doit l'extraire d'un volume assez considérable d'urine et le doser par un procédé quelconque. Dans tous les cas, on devra toujours redissoudre à une douce chaleur les sédiments d'urates qui pourraient s'être déposés dans l'urine avant de procéder au dosage. Nous ne ferons que mentionner l'analyseur gazométrique d'Esbach (1) dans lequel l'auteur soumet l'acide urique, précipité par l'acide acétique, à l'action décomposante de l'acide nitrique froid et étendu au 3/4.

α) **Procédé pondéral.**

Principe. — L'acide urique contenu dans l'urine sous forme d'urates solubles est mis en liberté par l'acide chlorhydrique, et se précipite en majeure partie, à cause de sa très faible solubilité.

Manuel opératoire. — On mélange intimement, dans un vase de Bohême, 250^{cc} d'urine et 25^{cc} d'acide chlorhydrique de $D = 1,12$, et l'on abandonne ce liquide pendant 48 heures au frais, ou 4 heures dans un mélange réfrigérant. Si l'on bat fortement le mélange pendant 5 minutes avant de le mettre au frais, la précipitation est complète au bout de 2 heures, d'après Petit. Le précipité est recueilli sur un filtre taré de 5 à 6 centimètres de diamètre, puis lavé avec 50^{cc} d'eau distillée froide, ajoutée par petites portions, desséché à 105° et enfin pesé.

Correction. — L'augmentation de poids du filtre ne représente pas tout l'acide urique contenu dans les 250 centimètres cubes d'urine. La précipitation de l'acide est sujette, en effet, à deux causes d'erreurs, qui heureusement se compensent, si l'on n'emploie que 30^{cc} d'eau pour le lavage (Heintz) (2); ces deux causes d'erreur sont d'abord le maintien en dissolution, dans le liquide, d'un peu d'acide urique, et d'autre part l'entraînement, par l'acide cristallisé, d'une certaine quantité de matière colorante. Mais si l'on emploie pour le lavage plus de 30^{cc} d'eau, il faut, à l'acide urique trouvé par la pesée, ajouter pour chaque 100^{cc} de liquide de filtration (urine et eau de lavage) 4^{mgr},5 suivant Zabelin (3), 4^{mgr},8 d'après Schwanert (4).

Calcul. — Soit 50 centimètres cubes d'eau de lavage. La quantité d'acide urique des 24 heures sera :

$$p.\ \text{d'ac. uriq.} = (P + 3 \times 0,0045) \times \frac{E}{250},$$

P représentant l'acide recueilli sur le filtre.

(1) Esbach, *Bull. de thérapeut.*, p. 15 et 28, févr. 1877.
(2) Heintz, *Ann. Chem. u. Pharm.*, 1864, t. CXXX, p. 119.
(3) Zabelin, *Ann. Chem. u. Pharm.*, supplém., t. II, p. 813.
(4) Schwanert, *Ann. Chem. u. Pharm.*, 1872, t. CLXIII, p. 256.

β) Procédé volumétrique par le permanganate de potassium.

Principe. — En solution acide et à l'ébullition, le permanganate de potassium oxyde l'acide urique qu'il suffit d'extraire de l'urine pour le doser volumétriquement, sachant que 1 de permanganate oxyde 3,233 d'acide urique (Byasson), 3,207 (Garnier). L'urine traitée par le mélange barytique du procédé de Liebig donne un précipité qui renferme tout l'acide urique sous forme d'urate de baryum insoluble : c'est ce précipité qu'on soumet à l'action du permanganate (Byasson) (1).

Liqueurs titrées : 1° *Solution barytique.* — On peut prendre tout simplement celle qui est employée pour le dosage de l'urée par le nitrate mercurique.

2° *Liqueur oxalique.* — On dissout dans l'eau 0gr,63 d'acide oxalique cristallisé et pur, desséché entre des doubles de papier à filtre, et l'on étend au litre. Les formules suivantes montrent que cette quantité 0,63 est oxydée exactement par 0,316 de permanganate de potassium.

$$\underbrace{2\,MnO^4K}_{316,2} + 3\,SO^4H^2 = 2\,SO^4Mn + SO^4K^2 + 5\,O + 3\,H^2O.$$

$$\underbrace{5\,C^2O^4H^2, 2aq}_{630} + 5O = 10\,CO^2 + 15\,H^2O.$$

3° *Liqueur permanganique.* — 1 gr. de MnO^4K environ par litre.

4° *Acide sulfurique* pur au 1/5e.

Manuel opératoire. — 1° *Titrage du permanganate.*— La réaction finale dans tous les dosages au permanganate consistant dans l'apparition d'une teinte rose persistante, laquelle exige pour se produire un excès de sel, on devra toujours, d'une part, tenir compte de cet excès, d'autre part, s'arranger pour que cet excès reste le même, c'est-à-dire opérer toujours sur un même volume de liquide à analyser. Le dosage de l'acide urique se faisant d'après un précipité blanc mis en suspension dans l'eau et constitué par un mélange d'urate, de phosphate et de sulfate de baryum, il faut titrer le permanganate dans les mêmes conditions, c'est-à-dire en présence d'un corps blanc pulvérulent et inerte mis en suspension dans le liquide, par exemple, du sulfate de baryte précipité.

Dans une fiole d'Erlemmeyer de 500cc de capacité, on introduit 200cc d'eau distillée, 5cc de solution sulfurique au 1/5 et 10cc d'acide oxalique titré; on ajoute ensuite 1 gramme de sulfate de baryte, et l'on mélange. On porte à l'ébullition, et l'on verse la solution manganique jusqu'à coloration rose persistant au moins pendant 5 minutes, après avoir reporté à 100° : appelons N le nombre de *cc* exigés pour la réaction.

On recommence la même opération sur 210cc d'eau + 5cc d'acide sulfurique + 1 gramme sulfate baryte : appelons *n* le nombre de *cc* exigés pour faire apparaître la coloration dans ce second cas.

(1) Byasson, *J. Ch. et Ph.*, 1882, t. VI, p. 20.

Le nombre de centimètres cubes réellement employés dans la première opération à l'oxydation de l'acide oxalique est de $(N - n)$.

Ces $(N - n)$ centimètres cubes de liqueur permanganique qui ont oxydé 10^{cc} de liqueur oxalique, c'est-à-dire $0,00063 \times 10 = 0^{gr},0063$ d'acide, contiennent par suite $0^{gr},003162$ de permanganate, et le titre de cette liqueur en acide urique sera :

$$1^{cc} \text{ liq. permanganique} = \frac{0,003162}{N - n} \times 3,207 = e.$$

La liqueur permanganique doit théoriquement être titrée avant chaque dosage d'acide urique, à cause de son altérabilité. Pratiquement, elle se conserve bien à l'abri de la lumière pendant des mois entiers et même plus, quand, au lieu de l'introduire dans un flacon neuf, on la conserve dans un vase déjà recouvert d'une mince couche d'oxyde brun de manganèse produit par la réduction spontanée du sel. Nous en avons eu qui, au bout de trois mois, avait conservé son titre sans qu'on eut pris d'autre précaution. Il sera donc bon de la vérifier de quinze en quinze jours au maximum.

2° *Dosage de l'acide urique dans l'urine.* — On précipite par un léger excès de liqueur barytique 25^{cc} d'urine acidulée par l'acide sulfurique. On recueille le précipité mixte sur un petit filtre, sans plis, disposé dans un entonnoir à succion ; on le lave soigneusement à l'eau pour enlever tous les éléments solubles, on crève le filtre et l'on fait tomber le précipité au moyen d'un filet d'eau dans un ballon jaugé de 100 ou 150^{cc} ; on complète le volume et l'on verse le liquide dans une fiole de 500^{cc}. On lave le ballon avec de l'eau distillée qu'on réunit au contenu de la fiole, de façon que le volume total de liquide soit de 210^{cc} ; on ajoute 5^{cc} d'acide sulfurique au 1/5, et l'on dose par le permanganate : soit n' le nombre de centimètres cubes de liqueur permanganique exigé.

Calcul du résultat. — e étant l'équivalent volumétrique de la solution permanganique en acide urique donné par la première opération, la quantité de ce composé contenu dans l'émission totale E des 24 heures sera de :

$$p. \text{ d'acide urique} = e \times (n' - n) \frac{E}{25}.$$

Les résultats fournis par cette méthode volumétrique sont concordants avec ceux du procédé pondéral.

MM. Blarez et Denigès (1) cependant font remarquer que, pour arriver à des indications précises, la quantité d'acide urique à doser ne devrait pas dépasser $0^{gr},10$, et celle de l'acide sulfurique libre, en présence duquel s'effectue le dosage, être de $3^{gr},50$ environ. Ce dernier nombre est supérieur, comme on le voit, à celui indiqué par Byasson.

Observations. — 1° Dans le cas où l'urine est albumineuse, quel que soit le procédé de dosage employé pour l'acide urique, on devra d'abord éliminer l'albumine par la coction en présence d'un peu d'acide acétique, puisqu'elle serait coagulée par l'acide chlorhydrique et précipitée par la solution barytique.

(1) *Journ. de chim. et de pharm.*, 1 mai 1887, p. 482.

2° Le sucre de l'urine diabétique nuisant à la précipitation de l'acide urique par l'acide chlorhydrique et l'empêchant même quelquefois complètement, le procédé pondéral ne peut plus être suivi comme il a été décrit. On précipitera l'urine par l'acétate de plomb, puis le liquide filtré par l'acétate mercurique; la combinaison mercurielle insoluble d'acide urique, recueillie après 12 à 24 heures, est lavée et décomposée par l'acide sulfhydrique; le liquide filtré, débarrassé de l'excès de gaz par la chaleur, est propre alors au dosage par la précipitation chlorhydrique (Haunyn et Riess (1).

3° L'acide hippurique est précipité par les sels de baryum et vient augmenter le chiffre réel d'acide urique; on devra l'éliminer au préalable par le chlorure ferrique, surtout dans les cas où l'on en prévoit une augmentation notable, consécutive à une alimentation végétale ou à l'ingestion de préparations benzoïques. Dans les conditions ordinaires, la modification qu'il produit sur la quantité exacte d'acide urique est assez faible pour qu'on puisse la négliger.

4° L'acide oxalique est également précipité avec l'acide urique par les sels de baryum. Dans certains cas de gravelle à la fois urique et oxalique, nous avons obtenu par le dosage au permanganate une quantité d'acide urique deux fois trop considérable (20^{gr},5 au lieu de 9^{gr},9, chiffre réel). Pour remédier à cette cause d'erreur, on peut faire un dosage spécial de l'acide oxalique dont on tiendra compte, en se rappelant que 1 p. d'acide oxalique cristallisé correspond à 1,609 p. d'acide urique à l'égard de la solution permanganique (2), ou, plus simplement, on précipite d'abord l'acide oxalique en additionnant l'urine d'acétate de sodium et de chlorure de calcium sans excès et filtrant après une agitation prolongée. Le liquide obtenu servira au dosage de l'acide urique (Garnier).

C. DOSAGE DE LA CRÉATININE.

Nous admettrons que l'urine ne renferme que de la créatinine. Quant à la créatine qu'on a cru retirer de ce liquide, elle constitue sans aucun doute un produit d'hydratation du premier de ces composés, qui prend naissance lors des opérations chimiques consacrées à son extraction.

Principe. — La créatinine forme avec le chlorure de zinc en solution alcoolique un précipité cristallin répondant à la formule $(C^4H^7Az^3O)^2,ZnCl^2$, et renfermant 62,44 p. 100 de créatinine. Bien que l'insolubilité de cette combinaison dans l'alcool fort ne soit pas absolue, et que le précipité obtenu au sein d'une urine ne soit pas complètement pur, ces deux causes d'erreur, en sens inverse, se compensent à peu près; c'est pour ce motif que nous adoptons le coefficient précédent.

Réactif. — Solution de chlorure de zinc dans l'alcool, présentant une densité de 1,20.

Manuel opératoire. — On précipite complètement 300^{cc} d'urine par un mélange de lait de chaux et de chlorure de calcium; on filtre et on lave le précipité. Le filtratum réuni aux eaux de lavage est acidulé légèrement par l'acide sulfurique,

(1) Haunyn et Riess, *Arch. f. Anatomie*, 1869, p. 393.

(2) 2 d'acide oxalique = 1 de permanganate de potassium = 3,27 d'acide urique.

évaporé à sirop au bain-marie, et mélangé à 40 ou 50^{cc} d'alcool marquant 95°, puis abandonné au frais pendant 6 à 8 heures. On filtre sur un tout petit filtre et on lave la solution insoluble avec de l'alcool fort. On réduit la solution à 60^{cc}, si elle occupe un volume plus considérable et on la mélange après refroidissement à $1/2^{cc}$ de solution alcoolique de chlorure de zinc. On abandonne le tout au froid pendant 2 ou 3 jours. On recueille le précipité de créatinine sur un petit filtre taré, on le lave à l'alcool jusqu'à disparition complète de chlore en solution, on dessèche à 100° et on pèse.

Calcul. — Soit x le poids trouvé de la combinaison de créatinine et de sel de zinc; la quantité de créatinine contenue dans l'émission des 24 heures est :

$$p \text{ de créatinine} = x\frac{62,44}{100} \times \frac{E}{300}.$$

Observations. — 1° On doit s'assurer, à l'aide du microscope, que le précipité est exempt de cristaux de chlorure de sodium, sinon on doserait le zinc dont 22,4 parties d'oxyde représentent 100 de la combinaison *créatinine-chlorure de zinc*.

2° Dans le cas d'une urine sucrée, le dosage de la créatinine ne sera possible qu'après fermentation complète de la glucose.

Hofmeister (1) a indiqué une modification du procédé de dosage, basée sur la précipitation de la créatinine, par le phosphotungsate de soude en solution chlorhydrique.

L'urine acidulée par 1/10 d'acide chlorhydrique est additionnée de phosphotungsate de soude; le précipité (qui renferme de la créatinine et de la xanthine) est lavé, puis décomposé à chaud par de la baryte. La solution filtrée, débarrassée de l'excès de baryte par un courant d'acide carbonique, est concentrée, reprise par l'alcool, et additionnée de chlorure de zinc qui donne la combinaison caractéristique de la créatinine.

Quant aux eaux mères de ces cristaux, on les traite par de l'azotate d'argent ammoniacal après sursaturation par l'ammoniaque. On obtient ainsi un précipité qui renferme la xanthine et qu'on redissout dans l'acide nitrique; par concentration et refroidissement des liquides, on obtient des cristaux de nitrate de xanthine et d'argent.

D. MATIÈRES EXTRACTIVES DE L'URINE.

Outre les composés azotés dont on s'est occupé jusqu'ici, savoir l'urée, l'acide urique et la créatinine, l'urine renferme encore à l'état normal d'autres produits, les uns, de nature azotée, tels que la xanthine, l'hypoxanthine, la paraxanthine, la cystine, l'allantoïne, l'acide oxalurique, l'acide hippurique, etc., et les autres, exempts d'azote comme les dérivés du phénol, l'acide oxalique, l'acide succinique, l'acide phosphoglycérique, etc. Ces divers corps s'y trouvent pour la plupart en quantité tellement faible que pour les déceler on doit opérer sur un

(1) Hofmeister, *Maly's Jahresbericht*, t. XI, p. 209.

volume considérable d'urine, 50 ou 60 litres. Ces éléments ont été réunis sous la dénomination de *matières extractives;* celle de *matières non dosées* conviendrait beaucoup mieux, et, en effet, leur poids brut, qu'on se contente de déterminer, est obtenu en retranchant du poids des matières organiques la somme des éléments organiques dosés spécialement.

On peut déterminer la quantité d'azote qui correspond aux éléments azotés de ces matières extractives, et, par suite, avoir une idée approximative de leur proportion dans l'urine, en retranchant du poids de l'azote total, la somme des poids de l'azote contenu dans les corps dosés, ce à quoi l'on arrive facilement en multipliant les poids respectifs de ces corps par les coefficients suivants : urée, 0,4667 ; acide urique, 0,3717 ; créatinine, 0,368 ; ammoniaque, 0,824 (Ritter) (1).

Acide phosphoglycérique. — La quantité de cet acide, qui existe dans l'urine humaine, est très faible $0^{gr},006$ à 0,028 dans les 24 heures ; elle augmente sensiblement chez les phtisiques atteints de foie gras 0,046 à 0,117 (Lépine) (2).

Pour doser ce composé, on peut suivre le procédé indiqué par Eymonet (3) : on précipite les phosphates de 200^{cc} d'urine par la mixture magnésienne ; le liquide filtré, évaporé, calciné avec du nitre pur pour détruire la combinaison de l'acide phosphoglycérique, donne un résidu salin qu'on redissout dans l'eau acidulée par l'acide nitrique et qu'on précipite par le molybdate ammoniaque en excès. Le précipité de phosphomolybdate d'ammonium est recueilli sur un filtre taré, lavé à l'eau acidulée par 1/10 d'acide nitrique, desséché et pesé ; le poids du précipité multiplié por 0,05573 donne la quantité correspondante d'acide phosphoglycérique contenue dans les 200^{cc} d'urine.

§ IV — RECHERCHE QUALITATIVE ET QUANTITATIVE DES ÉLÉMENTS ANORMAUX DE L'URINE.

Les éléments anormaux que l'on peut trouver dans les urines pathologiques sont les suivants : matières albuminoïdes, sucres, matières colorantes diverses, acides biliaires, acide lactique, éther acétylacétique, acétone, alcool, acides gras, graisses, cholestérine, tyrosine, leucine, cystine, enfin hydrogène sulfuré et ptomaïnes. Nous y joindrons ceux qui, n'existant normalement qu'en très minime proportion dans les urines normales où on ne les recherche pas d'ordinaire, peuvent augmenter considérablement dans certaines affections et nécessiter alors un dosage spécial : tels sont les acides hippurique et oxalique, l'acide benzoïque, les dérivés phénoliques, les matières colorantes normales. Dans cette partie de l'étude analytique des urines, nous ferons toujours suivre les procédés de recherche qualitative des divers composés énumérés précédemment, des méthodes d'analyse quantitative.

(1) Ritter, *Man. de chim, prat.*, 1874, p. 407.
(2) Lépine, *Soc. de biolog.*, Août 1882.
(3) Eymonet, *Journ. de pharm. et de chim.*, 1883, t. VII, p. 134.

1. MATIÈRES ALBUMINOÏDES.

Les matières albuminoïdes qui peuvent passer dans les urines sont : la sérine, les globulines, la fibrine, l'hémialbuminose, les peptones. Tantôt on n'y trouve qu'un seul de ces éléments, tantôt ils sont associés en nombre variable soit l'albumine et la globuline, ou l'albumine et la fibrine. A ces matières albuminoïdes proprement dites l'on doit joindre la mucine contenue en très faible proportion dans l'urine normale.

A. **Albumine.**

a. *Conditions d'apparition dans l'urine.*

L'espèce de matière albuminoïde qui passe dans les urines est constituée par de la sérine. Elle peut s'y trouver quelquefois, mais en quantité très minime, aussi bien en l'absence de toute affection rénale que d'un trouble physiologique quelconque, surtout à la suite d'efforts musculaires considérables ou de repas copieux (rarement plus de 0,1 p. 100 (Leube, E. Bull, Fürbringer, etc.).

Sous certaines influences pathologiques, l'urine peut contenir de l'albumine, principalement à la suite de *maladies du rein* (néphrite, dégénérescence amyloïde, etc.), mais aussi, et sans avoir une aussi grave signification, à la suite de *troubles de la circulation*, provenant, par exemple, d'affections cardiaques, d'emphysème pulmonaire ou de certains troubles nerveux, comme l'apoplexie cérébrale, l'épilepsie, le delirium tremens, etc. (albuminurie par augmentation de pression), troubles de circulation dans lesquels le rein n'est pas plus altéré, du moins au début, que dans les cas d'albuminurie transitoire qu'on observe chez certains individus sains. L'albumine passe encore dans les urines à la suite de certaines *maladies du sang*, telles que : fièvres de longue durée (albuminurie fébrile) maladies fébriles et infectieuses (pneumonie, fièvre typhoïde, typhus, scarlatine, etc.), empoisonnements par l'arsenic, le plomb, le phosphore, l'acide oxalique (1), les sels biliaires (certaines formes d'ictère), et autres substances analogues, et dans le cas d'anémie, de leucémie et de choléra. Enfin l'urine peut devenir albumineuse par suite de son mélange avec les sécrétions pathologiques des voies urinaires, ou d'un épanchement de chyle dans ces mêmes voies.

La quantité d'albumine contenue dans l'urine des néphritiques peut atteindre 5 p. 100 et même plus, bien que rarement. Dans d'autres cas d'albuminurie, la proportion descend bien au-dessous du chiffre précédent; ainsi dans la dégénérescence amyloïde des reins, on trouve rarement plus de 0,5 p. 100 d'albumine, quelquefois même 0,5 seulement p. 1000. L'émission totale des 24 heures peut renfermer de 1 jusqu'à 20 grammes d'albumine et plus.

b. *Procédés de recherche.*

On doit toujours opérer sur un liquide limpide et au besoin clarifié par filtration. Dans la recherche de l'albumine, on ne prend ordinairement aucune

(1) Frænkel, *Maly's Jahrsbericht*, t. XI, p. 219.

précaution pour la différencier de la globuline avec laquelle elle présente certaines propriétés caractéristiques communes et qui peut coexister avec elle dans l'urine. Il en résulte que la présence de l'albumine conduit à soupçonner également celle de la globuline qui d'ailleurs ne se retrouve, qu'à titre exceptionnel, isolément dans l'urine, mais presque toujours associée à la serine. Si donc l'on veut reconnaître d'une façon rigoureuse la sérine, on devra s'assurer, au préalable, de la présence ou de l'absence de la globuline, et dans le premier cas, éliminer celle-ci par des procédés qui seront décrits plus loin (p. 87).

1° *Coction*. — Pour trouver dans l'urine des quantités moyennement faibles d'albumine variant de 0,05 à 0,5 p. 100, on en porte une dizaine de centimètres cubes à l'ébullition dans un tube à essai. Puis, que l'on ait ou non obtenu un précipité, on *acidule* franchement le liquide par de l'acide nitrique, dont il ne faut généralement que le dixième ou le vingtième du volume de l'urine. L'albumine coagulée se sépare sous forme de flocons.

Dans ce procédé, l'acide azotique remet en dissolution les sels terreux, carbonates et phosphates, que la chaleur peut précipiter dans une urine neutre ou alcaline (1); il empêche la coagulation de la mucine qui y est soluble (insoluble dans l'acide acétique), et celle de l'hémialbuminose qui reste en dissolution dans les azotates alcalins formés, tant que le liquide est chaud. Par contre, il provoque la précipitation de l'acide urique et des urates acides de certaines urines, sous forme d'une poudre colorée et non de flocons. On distingue d'ailleurs facilement l'acide urique de l'albumine coagulée en ce que cette dernière, recueillie sur un filtre, peut être caractérisée par une de ses réactions de coloration ou par la précipitation, sous l'influence du cyanure jaune, de sa solution acétique faite à chaud. On peut éviter le dépôt d'acide urique, en étendant l'urine de trois ou quatre volumes d'eau avant la coction.

L'acide azotique peut aussi provoquer la séparation d'acides résineux et balsamiques qui passent dans les urines à la suite de l'usage de térébenthine, de résines et de baumes divers (copahu, styrax, tolu); mais ces composés se différencient de l'albumine avec la plus grande facilité par leur solubilité dans l'alcool.

Le procédé qui vient d'être décrit présente un inconvénient, bien qu'il permette de trouver jusqu'à 0,01 et même 0,005 d'albumine p. 100 (Laache) (2). Il se peut que de faibles quantités d'albumine échappent à la recherche, par suite d'une dissolution partielle de l'albumine coagulée dans l'acide nitrique à chaud, dissolution consécutive à une décomposition sous l'influence du réactif. Pour remédier à cette cause d'erreur, il faut se garder soigneusement de chauffer de nouveau l'urine après addition de l'acide, ou de mélanger l'acide avant la coction.

2° *Acide azotique à froid* (Heller). — Dans un verre à pied contenant 30^{cc}

(1) Ces phosphates sont tenus en dissolution en partie par l'acide carbonique, ce qui explique leur précipitation par la chaleur (Brett); mais la cause principale de cette réaction serait due à la transformation du phosphate acide de chaux, au commencement de la fermentation ammoniacale de l'urine, en phosphate neutre bicalcique soluble à froid, mais dissocié à chaud en phosphate acide soluble et en phosphate tricalcique (Carles, *Journ. de chim. et pharm.*, t. XIII, p. 49).

(2) Laache, *Guide pratique pour l'analyse des urines*, trad. de Francotte, Paris, Bruxelles, 1885. p. 60.

environ d'urine, on verse au fond, à l'aide d'une pipette, de l'acide azotique concentré de façon que les liquides ne se mélangent pas. Il se forme à la surface de séparation des deux liquides un trouble qui va en augmentant de bas en haut, s'il y a de l'albumine dans l'urine (abstraction faite des colorations qui se produisent presque toujours). Cette réaction excessivement sensible, réussit même avec des traces d'albumine (0,025 p. 1000, suivant Almen).

Au-dessus de l'anneau formé par le coagulum d'albumine, il s'en produit souvent un autre dans les urines concentrées et riches en urates. Cet anneau ne peut être confondu avec celui de l'albumine, car ils ne peuvent se juxtaposer, l'acide urique étant soluble dans un excès d'acide azotique, de sorte que les deux anneaux sont toujours séparés par une couche d'urine transparente.

Les urines riches en urée se troublent sous l'influence de l'acide azotique comme si elles étaient albumineuses, mais au bout d'un certain temps, le précipité formé d'azotate d'urée devient cristallin.

Dans ce dernier procédé de même que dans celui de la coction, les acides résineux de l'urine sont déplacés de leur combinaison, et donnent un précipité qui se différencie de l'albumine coagulée par sa solubilité dans l'alcool. Dans certains cas, rares il est vrai, on peut trouver, dans l'urine, de l'albumine dont le coagulum nitrique se redissout dans l'alcool; mais alors le procédé de la coction indiquera nettement la présence de l'albumine (Garnier) (1).

3° *Acide acétique et chlorure de sodium.*— L'urine albumineuse, franchement acidulée par l'acide acétique, puis additionnée d'un huitième de son volume d'une solution saturée de chlorure de sodium et chauffée, donne un précipité floconneux d'acidalbumine provenant de la sérine.

Ici encore il peut se former un précipité d'acide urique aux dépens des urates.

En traitant l'urine par très peu d'acide acétique et un grand excès de sel marin, l'hémialbumine qui peut être présente devient insoluble.

4° *Acide acétique et cyanure jaune.* — On peut déceler des traces d'albumine dans l'urine, 0,002 p. 100, suivant Hofmeister, en ajoutant au liquide un excès d'acide acétique, puis quelques gouttes de cyanure jaune : il se forme un précipité floconneux et épais d'albumine insoluble.

Dans cette réaction, aucun des éléments constituants de l'urine normale n'est précipité. L'hémialbuminose donne un précipité soluble à chaud, ainsi qu'avec les sels neutres. L'acide urique déplacé par l'acide acétique ne se sépare qu'après quelques heures.

5° *Procédés divers.*— On a proposé encore d'autres réactions pour rechercher l'albumine dans l'urine, mais elles ne sont guère recommandables, soit qu'elles aient été insuffisamment étudiées, soit qu'elles donnent des précipités avec d'autres substances normalement contenues dans l'urine (mucine, etc.). Méhu, Tidy et Lewis ont proposé l'emploi du phénol; Rees et Almen celui de l'acide tannique. Galippe, Hager, Esbach et Johnson ont préconisé l'acide picrique; Bouchardat, Cadier, Tanret et Geissler, l'iodure de mercure et de potassium; Gaudail, le nitrate mercurique. D'autres ont eu recours aux acides métaphosphorique, trichloracétique, phosphomolybdique et phosphotungstique.

(1) *Journ. de pharm. et de chim.*, 1882, t. VI, p. 339.

6° *Réactifs portatifs de l'albumine* (1). — Il peut être très utile au médecin ne posséder dans sa trousse des réactifs lui permettant de rechercher immédiatement l'albumine au lit du malade. De tous ceux qui ont été proposés dans ce but (papiers réactifs, acides solides, acides en solution), les plus commodes sont les suivants :

a) *Papiers réactifs de Tanret*, formés de bandelettes de papier à filtre blanc, trempées, les unes, dans une solution concentrée d'acide citrique, les autres, dans une solution de sublimé corrosif traité par un excès d'iodure de potassium jusqu'à redissolution du précipité rouge d'abord formé. On ajoute à l'urine suspecte une bandelette de chaque sorte, on agite et l'on observe s'il se produit ou non un précipité ou un trouble.

b) *Tablettes au cyanure jaune*, constituées par un mélange de ferrocyanure de potassium et d'acide citrique. On en arrose un fragment pulvérisé avec de l'urine et l'on agite. Il se produit une opalescence, nette encore avec des traces d'albumine (Pavy).

c. *Séparation de l'albumine et des globulines.*

Les réactions qui viennent d'être décrites étant communes à l'albumine et aux globulines, on caractérisera la sérine en précipitant d'abord la globuline par la saturation de l'urine à la température ordinaire au moyen du sulfate de magnésie. Le liquide filtré, soumis à la coction, donnera un précipité floconneux s'il renferme de l'albumine.

d. *Élimination de l'albumine.*

Nous avons vu que certaines opérations exigeaient l'élimination préalable de l'albumine de l'urine. Pour ce faire on peut, suivant les cas, employer l'une ou l'autre des méthodes suivantes :

1° *Coction vers* 100°. — Si l'urine est fortement acide, on la chauffe telle quelle; si elle est faiblement acide ou alcaline, on lui ajoute goutte à goutte de l'acide acétique dilué jusqu'à ce qu'elle présente la réaction acide normale, puis on porte à l'ébullition. La coagulation de l'albumine est bien réussie quand la substance se sépare sous forme de flocons nageant dans un liquide parfaitement transparent.

Par ce procédé on élimine, en même temps que l'albumine, la mucine et la globuline, mais non l'hémialbuminose.

2° *Emploi de l'alcool.* — Addition au liquide de trois à quatre volumes d'alcool à 95° qui précipite même des traces d'albumine.

3° *Procédés divers.* — On peut encore additionner l'urine d'une solution saturée de sel marin au 1/8, aciduler fortement par l'acide acétique et chauffer. Si l'on n'ajoute pas trop de sel au liquide, acidulé sans excès, l'hémialbuminose devient insoluble. Quant à la globuline, elle est toujours précipitée. La précipitation est ainsi complète à froid, au bout de 15 à 20 minutes.

Enfin on se sert de sels métalliques, en choisissant de préférence ceux qui ne redissolvent pas le précipité d'albuminate métallique. L'acétate ferrique, le

(1) Laache, *loc. cit.*, p. 72.

sulfate de cuivre et l'acétate basique de plomb, conviennent parfaitement pour précipiter complètement l'albumine; ils entraînent également la globuline et l'hémialbuminose.

B. Globulines.

a. *Conditions d'apparition dans l'urine.*

Les globulines se trouvent presque toujours dans l'urine, à côté de la sérine, dans les deux formes d'albuminurie (Lehmann, Edlefsen, Sénator). Cette assertion confirme l'opinion déjà ancienne de la présence de plusieurs variétés d'albumine dans l'urine. Hammarsten n'a constaté qu'avec peine, dans des cas très rares, la présence de traces seulement de globuline et plus rarement encore, une fois sur 40 cas, celle de la globuline sans albumine. Le même auteur a trouvé comme limites les chiffres de 8,13 à 60,24 p. 100 du poids total des matières albuminoïdes (1); mais les plus fortes proportions de cette substance ont été constatées par Sénator, dans des cas de dégénérescence amyloïde, de néphrite aiguë et de catarrhe vésical.

La globuline de l'urine paraît constituée, en majeure partie, par les deux globulines du plasma sanguin, c'est-à-dire par la *sérumglobuline* ou *paraglobuline* qui s'y trouve en plus grande proportion, et par la *fibrinogène.*

b. *Procédés de recherche.*

Les globulines ne peuvent être immédiatement caractérisées quand elles sont en présence de l'albumine; on doit, au préalable, les isoler par l'un des procédés suivants :

1° On étend l'urine d'eau jusqu'à ce quelle marque 1002 ou 1003 au densimètre, puis on l'additionne avec précaution d'acide acétique dilué, tant que le précipité augmente par l'agitation. Ou bien encore on y fait passer pendant longtemps un courant d'acide carbonique (Lehmann, Sénator). Le précipité obtenu par le repos ne représente qu'une minime partie de la globuline contenue dans l'urine.

2° La totalité des globulines de l'urine est précipitée, suivant Hammarsten (2), quand on sature à froid le liquide au moyen de sulfate de magnésie.

Les globulines isolées par décantation, après leur tassement, sont caractérisées par les réactions suivantes : insolubilité dans l'eau, solubilité facile dans le chlorure de sodium à 5 ou 10 p. 100, et dans les solutions étendues d'alcalis, de carbonates alcalins et d'acides, comme la protéine. Pour les caractériser nettement, on traitera leur solution dans le chlorure de sodium étendu, bien exempte de sérum-albumine, par les réactifs étudiés précédemment pour la substance isolée.

L'hémialbuminose ne peut être confondue avec les globulines, par suite de sa solubilité dans l'eau; d'ailleurs sa solution alcaline est très imparfaitement précipitée par l'acide carbonique.

c. *Séparation de la fibrinogène et de la sérum-globuline.*

On peut distinguer la sérum-globuline de la fibrinogène en se basant sur leur

(1) Neubauer et Vogel, *Anal. des Harns*, 1881, p. 127.

(2) Hammarsten, *Pflüger's Archiv.*, t. XVII, p. 431 et 447; t. XXII, p. 437.

différence de température de coagulation, sur les propriétés de leur solution dans le sel marin, enfin sur leur participation à la production de la fibrine. Les globulines doivent, au préalable, avoir été complètement débarrassées, par un lavage à l'eau, de la sérine qui les imbibe :

1° La solution dans la plus petite quantité possible de chlorure de sodium à 5-10 p. 100, chauffée avec précaution au bain-marie donne, entre 56 et 60°, un coagulum de fibrinogène; le liquide filtré, chauffé entre 75 et 80°, laisse la sérum-globuline se précipiter à son tour.

2° Une solution de sérum-globuline, même concentrée, dans le chlorure de sodium au 1/10ᵉ, peut rester claire après addition d'un égal volume de solution saturée de sel marin, tandis que les solutions très étendues de fibrinogène sont précipitées complètement de leur solution salée, après saturation avec du chlorure de sodium solide; mais la saturation par le sel marin des liquides naturels qui renferment la sérum-globuline, ne la précipite plus quand on expose le mélange au froid.

3° Une solution de fibrinogène fournit de la fibrine quand on y ajoute le ferment de la fibrine, sans que la sérum-fibrine prenne part à cette production (Hammarsten). Si le mélange d'un liquide de transsudation, non spontanément coagulable (liquide d'hydrocèle ou du péricarde), et d'une solution de globuline de l'urine, fournit un coagulum après avoir été porté à 40°, cela prouve non pas la présence de la sérum-globuline dans cette solution, mais celle du ferment de la fibrine (Sénator).

C. **Fibrine**.

a. *Conditions d'apparition dans l'urine.*

La fibrine peut apparaître dans l'urine, dans les hémorrhagies des voies urinaires, par exemple à la suite d'un empoisonnement par les cantharides et dans la chylurie. Elle se coagule quelquefois déjà dans la vessie ou seulement après l'émission de l'urine, et forme soit un précipité gélatineux, soit des filaments solides, ou encore des flocons.

b. *Procédés de recherche.*

On sépare la fibrine coagulée, par filtration, sur une toile épaisse, on la lave avec de l'eau, et l'on constate son insolubilité dans les acides et les alcalis étendus, ainsi que dans le chlorure de sodium à 5 ou 10 p. 100. On peut ensuite tenter les réactions générales des matières albuminoïdes avec la solution de la fibrine faite à chaud, dans un volume relativement grand de carbonate de soude à 1 p. 100 ou d'acide chlorhydrique à 1/2 p. 100, ou encore appliquer directement au coagulum les réactifs de coloration.

D. **Hémialbuminose**.

Sous cette dénomination due à Kühne (1), Hüppert comprend les premiers produits qui se forment pendant la digestion pepsique et pancréatique des matières

(1) Kühne, *Bericht. des Naturhistor. Mediz. Vereins zur Heidelberg*, t. I. n° 4.

albuminoïdes, ainsi que dans l'action, sur celles-ci, des acides ou de l'eau surchauffée : c'est la propeptone de Schmidt-Mülheim, et peut-être l'α-peptone de Meissner.

a. *Conditions d'apparition dans l'urine.*

Bence-Jones, le premier, a trouvé l'hémialbuminose dans l'urine d'un ostéomalacique, qui en renfermait 6,7 p. 100, et suivant toute apparence, ne contenait pas d'albumine. Kühne a observé un cas semblable au précédent. Lassar a vu l'hémialbuminose précéder l'apparition de l'albumine dans l'urine de chiens enduits de pétrole ; Leube l'a trouvée dans un cas d'albuminurie avec urticaire, Neale dans l'hémoglobinurie, von Jacksch dans un cas de tuberculose avec néphrite et péritonite. D'après les recherches spéciales, faites par divers auteurs sur les urines albumineuses, il paraît que l'hémialbuminose se retrouverait fréquemment dans l'urine ; cependant les observations ne sont pas encore assez nombreuses pour pouvoir affirmer cette proposition avec certitude.

b. *Procédés de recherche.*

1er *Cas.* — L'urine ne renferme ni albumine ni globuline.

1° On peut soupçonner la présence de l'hémialbuminose quand l'urine, traitée par le procédé de la *coction*, ne fournit de précipité après l'addition de l'acide nitrique que pendant le refroidissement, ou quand le précipité va en augmentant après le refroidissement. Cette réaction ne mérite pas grande confiance ; car l'albumine elle-même qui se trouve dans l'urine est transformée facilement en hémialbuminose par l'action des acides, et d'un autre côté l'urine, qui ne renferme que très peu d'hémialbuminose, ne se trouble pendant le refroidissement que si la quantité d'acide nitrique ajoutée est très faible.

2° La réaction de l'*acide acétique et du cyanure jaune* (p. 85) produit de bien meilleurs résultats. L'urine de concentration moyenne donne un faible précipité si elle contient 0,5 p. 100 d'hémialbuminose, mais avec une proportion moindre elle fournit encore un trouble très net. Le précipité est dissout par la chaleur et reparaît par refroidissement, ce qui différencie nettement l'hémialbuminose de l'albumine dont le congulum n'est pas dissout. Dans les urines riches en matières salines ou pauvres en hémialbuminose, le trouble, souvent difficile à apprécier, devient plus net après addition préalable d'eau à l'urine.

3° *L'acide picrique* précipite en flocons jaunes et fins de petites quantités d'hémialbuminose ; ces flocons se dissolvent à chaud et reparaissent par le refroidissement. Malheureusement les peptones se comportent de même, et de plus l'acide picrique donne à chaud, même avec les urines exemptes de toute matière albuminoïde, un précipité floconneux épais.

4° Il est bien plus sûr de saturer l'urine par le *chlorure de sodium*, l'hémialbuminose donne un précipité qui augmente par l'addition d'acide acétique. Si la quantité de ce dernier est très faible, le précipité se dissout encore à chaud pour reparaître après refroidissement.

2e *Cas.* L'urine renferme de l'albumine et de la mucine.

Pour trouver l'hémialbuminose dans ce cas, il importe d'éliminer au préalable les matières albuminoïdes qu l'accompagnent.

On sature l'urine de sel marin, on l'additionne de beaucoup d'acide acétique, on la porte à l'ébullition et l'on filtre. L'albumine, la globuline et la mucine restent sur le filtre, tandis que le liquide clair abandonne l'hémialbuminose pendant le refroidissement. On peut recueillir celle-ci sur un petit filtre, l'exprimer, la redissoudre dans un peu d'eau et caractériser la solution par une des réactions de l'hémialbuminose indiquées plus haut.

E. **Peptones.**

a. *Conditions d'apparition dans l'urine.*

La peptone que l'on décèle dans l'urine est identique, au moins pour la plus grande partie, à celle des collections purulentes (Meissner, Hofmeister). Elle passe dans les urines, soit à la suite d'un mélange direct de celles-ci avec du pus, soit dans les cas où, en quelque endroit de l'économie, il y a production abondante et surtout stagnation de pus en grande quantité (abcès profonds, exsudats pleurétiques et péritonéaux purulents, cavernes, pneumonie croupale, méningite, etc.), et dans ceux où ces collections purulentes se font jour brusquement (Hofmeister). Le sang se charge alors de peptones qui diffusent facilement dans l'urine et produisent ainsi la *peptonurie pyogène* de Jacksch. La présence de la peptone dans l'urine, à la suite d'un empoisonnement aigu par le phosphore, de carcinome stomacal, d'anémie pernicieuse, de scorbut, etc., paraît être en relation avec la maladie (*peptonurie hématogène* de Jacksch). On l'a encore trouvée dans la pneumonie, le carcinome stomacal, la fièvre typhoïde (*peptonurie entérogène* de Meissner), dans l'état puerpéral et à la suite d'une rupture de kyste de l'ovaire (1). Les urines peuvent renfermer de la peptone à côté d'autres matières albuminoïdes; mais l'urine albumineuse ne contient pas nécessairement cette peptone qu'on n'y rencontre au contraire que tout à fait exceptionnellement. Cette peptone de pus se rapproche surtout de la caséine-peptone de Henninger, sans lui être cependant identique.

b. *Procédés de recherche.*

Les meilleures méthodes de recherche de la peptone dans l'urine sont dues à Hofmeister; mais l'urine doit être au préalable privée de toute trace d'albumine qui donne les réactions positives de la peptone, et de mucine qui est précipitée par l'acide acétique. En outre, la peptone doit être extraite et isolée de l'urine dont certains éléments subissent l'action des réactifs qui devront servir à caractériser la peptone.

On précipite complètement 1/2 litre au moins d'urine par l'acétate de plomb sans excès et l'on filtre; le liquide est ainsi débarrassé de mucine et de matières colorantes.

Une partie du filtratum est traitée par l'acide acétique, puis par quelques gouttes de cyanure jaune.

Deux cas peuvent se présenter :

1° *Il ne se forme pas de précipité :* l'urine est exempte d'albumine. On mé-

(1) Laache, *loc. cit.*, p. 82.

lange une faible partie du liquide filtré avec 1/5 de son volume d'acide acétique, et l'on y verse une solution acétique d'acide phosphotungstique. Si, après un repos suffisamment prolongé, le liquide reste clair, il ne renferme pas de peptone; s'il se trouble, l'urine peut contenir de la peptone. On traite alors tout le liquide filtré, séparé du précipité plombique, par 1/2 ou 1/10 d'acide chlorhydrique, puis par une solution d'acide phosphotungstique (phosphotungstate de soude dissout dans l'eau, traité à froid par de l'acide chlorhydrique ou azotique jusqu'à forte réaction acide, puis filtré après un jour de repos) tout le temps qu'il se produit un précipité qu'on doit recueillir *immédiatement* sur un filtre, pour éviter son mélange avec un second précipité rougeâtre qui se forme par le repos, et qui entrave la réaction des peptones. Le précipité est lavé avec de l'acide sulfurique à 3-5 p. 100, jusqu'à ce que le liquide passe incolore, puis broyé avec de l'hydrate de baryte solide, additionné d'eau et chauffé légèrement pour éviter toute coloration; on filtre.

Le liquide renferme, outre la peptone, de la créatinine et de la xanthine (1) qui n'entravent pas les réactions caractéristiques. Ces dernières sont: la coloration par le réactif de Millon (rouge); la réaction du biuret (coloration rose ou rouge par addition de potasse, puis d'une goutte de sulfate de cuivre) qui réussit encore avec 1 p. de peptone dans 12.000 parties d'eau, enfin la précipitation en solution azotique par l'acide phosphotungstique.

Par ce procédé, on réussit à caractériser la présence dans l'urine de $0^{gr},1$ de peptone par litre.

2° *Il se forme un précipité:* l'urine est albumineuse. — On élimine l'albumine en traitant 1/2 litre d'urine par 10^{cc} d'acétate de soude concentré, puis par une solution concentrée de chlorure ferrique, ajoutée goutte à goutte, tant qu'il se forme un précipité et jusqu'à coloration rouge persistante. Le liquide filtré est neutralisé par une solution alcaline jusqu'à très faible réaction acide persistante, porté à l'ébullition, puis filtré de nouveau après refroidissement. La précipitation de l'albumine est complète lorsque le liquide ne donne plus rien par l'acide acétique et le cyanure jaune, même après une heure de repos (Hofmeister); on le soumet alors, comme précédemment, à l'action de l'acide phosphotungstique.

F. Mucine.

a. *Conditions d'apparition dans l'urine.*

La mucine se trouve constamment, mais en très faible proportion, dans les urines normales. Par suite de la réaction acide du milieu, elle se dépose assez rapidement par le repos, sous forme de légers flocons qui tombent au fond du vase en entraînant des cellules épithéliales et des corpuscules de mucus visibles au microscope.

Dans les diverses affections aiguës accompagnées de fièvre, la proportion de mucine augmente, consécutivement à un surcroît de sécrétion de la mu-

(1) La créatinine et la xanthine ne sont précipitées par l'acide phosphotungstique qu'en présence de l'acide chlorhydrique et non de l'acide acétique.

queuse des voies urinaires; il en est de même dans les affections catarrhales de ces mêmes voies. Le nuage muqueux, décrit précédemment, devient souvent extrêmement volumineux et très riche en éléments microscopiques.

La présence d'une grande quantité de mucus prédispose l'urine à la fermentation acide ou ammoniacale.

b. *Procédés de recherche.*

L'acide acétique donne à froid avec la mucine, un précipité insoluble dans un excès : il se produit un trouble uniforme qui se résout très rarement en flocons tombant au fond du liquide, à moins que ce dernier n'ait été étendu de plusieurs volumes d'eau.

Les acides minéraux très étendus précipitent aussi la mucine, mais le précipité se redissout facilement dans le moindre excès de réactif. L'addition d'eau à l'urine, avant celle de l'acide, empêche l'action dissolvante des sels neutres sur la mucine coagulée, et, en outre, la précipitation de l'acide urique qui pourrait produire un trouble analogue à celui de la mucine.

La mucine est précipitée comme l'albumine, par le tannin, l'acide picrique et le phénol.

c. *Séparation.*

On élimine faiblement la mucine de l'urine, non par l'addition d'acide acétique, puisque le liquide filtré reste toujours trouble, mais par l'action de l'acétate de plomb sans excès. La mucine forme avec ce sel une combinaison insoluble ou est entraînée mécaniquement par les précipités de phosphate et de chlorure de plomb.

DOSAGE DES MATIÈRES ALBUMINOÏDES.

A. **Dosage total des matières albuminoïdes.**

Ce dosage peut être effectué par trois méthodes différentes : 1° par la pesée du précipité d'albumine, obtenu en traitant l'urine soit par l'acide acétique étendu à chaud, soit par l'alcool (Liborius) (1), le tannin (Girgensohn) (2), l'acide phénique (Méhu) (3), l'acide picrique (Galippe, Esbach) (5), l'acide acétique et le cyanure jaune (Bœdeker) (4), etc... ; 2° par la méthode polarimétrique (Vogel) (6) ; 3° enfin par l'appréciation du degré d'opacité et de la rapidité de formation du trouble dans la méthode de Heller (Roberts, Brandberg), ou du degré d'opacité, ou de la hauteur du dépôt après repos dans un tube gradué (Esbach (7). Tanret (8) a proposé une méthode volumétrique basée sur l'emploi d'une liqueur

(1) Liborius, *Arch. f. Klin. Medic.*, t. X, p. 319.
(2) Girgensohn, *Arch. f. Klin. Medic.*, t. XI, p. 613.
(3) Méhu, *Journ. de pharm. et de chim.*, 1869, t. IX, p. 95.
(4) Bœdeker, *Ann. d. Ch. und Pharm.*, t. CXI, p. 195.
(5) Esbach, *Centralblatt f. d. Med. Wissensch.*, 1880, p. 430.
(6) Vogel, *Zeitschr. f. Anal. Chem.*, t. VII, p. 152.
(7) Esbach, *Bull. gén. de thérapeut.*, 1874, t. XLIII, p. 68.
(8) Tanret, *Centr. Bl. f. d. Med. Wissensch.*, 1877, p. 493.

titrée d'iodure double de mercure et de potassium. Nous ne décrirons que le procédé de la pesée, après coction de l'albumine en présence de l'acide acétique, et celui des dépôts de Essbach.

1er Procédé. — Coagulation à chaud.

On prend une quantité d'urine telle qu'elle ne contienne que 0,2 à 0,3 gramme d'albumine, soit par exemple 100cc, on l'étend fortement d'eau, en évitant toute filtration préalable autant que possible, à cause de la diminution qui se produit dans la proportion d'albumine du liquide, et l'on chauffe au bain-marie à 100°. Si le liquide, au milieu duquel nagent les flocons d'albumine coagulée, n'est pas tout à fait transparent, on l'acidule légèrement par de l'acide acétique étendu à 2 p. 100 sans excès; on mélange et l'on chauffe à feu nu. On recueille le précipité sur un filtre desséché à 120° et taré, on le lave à l'eau, puis à l'alcool et à l'éther absolu, on le sèche à 120° jusqu'à ce qu'il ne perde plus de poids et l'on pèse. L'augmentation de poids du filtre représente l'albumine contenue dans les 100cc d'urine; il est ensuite facile de calculer la quantité totale contenue dans l'émission des 24 heures.

L'erreur en trop, due à l'entraînement d'un peu de matière colorante et celle qui provient de la précipitation d'une petite quantité de phosphates terreux, sont insignifiantes, surtout si le milieu est resté acide sans excès, de façon à ne pas risquer de redissoudre l'albumine dans l'acide acétique. On pourrait d'ailleurs incinérer le filtre et défalquer le poids des cendres de celui du poids total de l'albumine pour obtenir un résultat très exact.

2e Procédé. — Procédé des dépôts d'Esbach (1).

Principe. — L'urine albumineuse, additionnée dans un tube à essai d'une solution d'acide picrique, donne un coagulum blanc jaunâtre dont le volume, après 24 heures de repos, correspond toujours à peu près à une quantité déterminée d'albumine.

Liqueur titrée. — Solution aqueuse de 20 grammes d'acide acétique pur et de 10 grammes d'acide picrique, étendue au litre.

Manuel opératoire. — Dans un tube gradué spécial (2) divisé en deux parties, l'une inférieure, limitée par un trait marqué U, l'autre supérieure marquée R, on verse l'urine jusqu'au trait U, puis le réactif picrique jusqu'au trait R. On bouche avec le doigt et on le retourne 12 fois sans secouer, de façon à bien mélanger les liquides sans produire de mousse, puis on laisse reposer pendant 24 heures. A ce moment, on lit sur la graduation empirique que porte la partie inférieure du tube, le chiffre correspondant à la partie supérieure du dépôt; ce chiffre représente immédiatement, en grammes, la quantité d'albumine contenue dans 1 litre d'urine.

Remarque. — La précipitation de l'albumine par l'acide picrique exige que le milieu soit acide. Si l'urine est neutre ou ammoniacale, il faut l'additionner

(1) Esbach. Dosage pratique de l'albumine, trois nouvelles méthodes, *Bull. gén. de thérapeut.*, 1874, t. LXXXVI, p. 37.

(2) Modèle de 1880, construit par Brewer, à Paris.

d'un volume connu d'acide acétique jusqu'à forte réaction acide, et tenir compte de cette dilution. En outre, les résultats sont d'autant plus exacts et plus constants que les chiffres trouvés sont moins élevés : si donc une urine paraît chargée d'albumine, il sera préférable de l'étendre de 1, 2 ou 3 volumes d'eau de manière à ne pas dépasser 4 grammes d'albumine, et de tenir compte de cette dilution en doublant, triplant ou quadruplant les résultants.

Cette méthode, d'une grande simplicité est très suffisante, pour les besoins cliniques; elle est moins exacte sans contredit que le procédé de la pesée, mais elle donne cependant des résultats assez rapprochés de la vérité en observant les précautions indiquées. Ainsi, dans un cas d'albuminurie, où le procédé de la pesée avait donné 37 grammes d'albumine en 24 heures, nous en obtenions 35 et 38 grammes par celui des dépôts d'Esbach (Garnier). Il convient cependant de rappeler que l'acide picrique précipite encore, outre l'albumine, les alcaloïdes et les acides résineux.

B. **Dosage des globulines.**

Procédé de Hammarsten. — Suivant qu'une urine est plus ou moins riche en globulines, on en prend 25 ou 100cc qu'on sature par du sulfate du magnésie en poudre, environ 80 grammes pour 100cc de liquide, en remuant constamment. On abandonne au repos pendant 24 heures et l'on recueille le précipité de globulines sur un filtre desséché et taré. On lave avec une solution saturée et froide de sulfate de magnésie jusqu'à ce que les eaux de lavage ne se troublent plus par la coction en présence d'un peu d'acide acétique (albumine), puis on chauffe le filtre à 110° pendant plusieurs heures pour rendre le précipité insoluble. On le lave ensuite à l'eau pour éliminer le sulfate, puis à l'alcool et à l'éther, et l'on pèse. L'augmentation de poids du filtre représente les globulines contenues dans le volume d'urine mise en œuvre.

2. MATIÈRES SUCRÉES.

Les matières sucrées que l'on peut constater dans l'urine sont : la glucose ou sucre de raisin, la lévulose ou sucre de fruits, la lactose, la maltose et l'inosite. Nous y joindrons la dextrine, trouvée par Reichardt, dans l'urine des diabétiques, après disparition du sucre, bien que ce ne soit pas un sucre proprement dit.

A. **Glucose.**

a. *Conditions d'apparition dans l'urine.*

La glucose est l'élément typique du *diabète sucré* ou de la glucosurie, dans lequel il apparaît dans les urines en quantité souvent considérable, de 300 à 800 grammes en 24 heures. Dans les cas graves, on la trouve constamment dans l'urine, quel que soit le moment de son émission; dans les cas légers, au contraire, l'urine n'en renferme qu'après les repas importants, ou encore après l'ingestion de sucres ou d'hydrates de carbone.

Elle apparaît dans les urines, mais en bien moindre quantité et d'une façon passagère, à la suite de certaines lésions anatomiques du système nerveux, principalement après la piqûre du plancher du 4ᵉ ventricule du cerveau (Claude Bernard), dans la sciatique, les lésions du crâne et de la colonne vertébrale, la sclérose cérébrale diffuse, la commotion et l'apoplexie cérébrale (*glucosurie d'origine nerveuse*), dans l'empoisonnement par l'arsenic, par l'oxyde de carbone (11 fois sur 16 cas, Frérichs) (1), le curare, la morphine, le chloral, l'acide prussique, l'alcool, le nitrite d'amyle, après l'injection dans les vaisseaux sanguins de solutions étendues de sel marin ou de sucre (glucosurie), après l'emploi à l'intérieur d'essence de térébenthine (Vollert et Almen), enfin, à la suite de l'injection sous-cutanée de nitrobenzine et de nitrotoluène (*glucosurie par intoxication*). On l'a encore trouvée dans certains cas de catarrhe stomacal, cirrhose du foie, thrombose de la veine porte (*glucosurie par troubles digestifs*).

D'après les recherches récentes de Abeles (2) et de Worm-Müller (3) qui viennent confirmer celles de Bruckner, de Bence-Jones, de Kuhne et de Pavy, l'urine normale contiendrait du sucre, mais en quantité tellement faible (0,02-0,05 p. 100, Worm-Müller) que, pour le déceler, on est obligé d'opérer sur un volume très considérable d'urine.

b. *Procédés de recherche.*

Les urines glucosuriques présentent un certain nombre de caractères communs qui attirent l'attention du médecin :

1° Volume de l'émission des 24 heures très considérable, pouvant monter à 12 et même à 20 litres;

2° Couleur très claire (teinte 1 et 2 de l'échelle de Vogel);

3° Densité très forte, 1,030 à 1,050, au lieu de 1,020.

De tous les procédés indiqués pour reconnaître la présence de la glucose dans l'urine, le plus recommandable est certainement celui de la liqueur cupro-potassique (Barreswil, Fehling, Trommer), à la condition d'opérer d'une manière uniforme et bien déterminée. On peut y joindre la réaction des alcalis, dite de Moore-Heller, et celle du sous-nitrate de bismuth en milieu alcalin, comme expérience confirmative.

1ᵉʳ Procédé. — **Recherche par la liqueur cupro-potassique** (Barreswil).

Principe. — Une solution tartrique d'oxyde cuivrique hydraté est réduite à chaud par la glucose, dans un milieu alcalin, en oxyde cuivreux hydraté jaune, puis en oxyde anhydre rouge.

La liqueur cupro-potassique est constituée par un mélange à volumes égaux des deux solutions suivantes que l'on doit conserver à part et ne mélanger qu'au moment du besoin :

1° Solution de 34ᵍʳ,65 de sulfate de cuivre pur et cristallisé dans l'eau, étendue

(1) Frérichs, *Ueber den Diabetes*, Berlin, 1874.

(2) Abeles, *Centralbl. f. d. Medic. Wissensch.*, 1879, p. 33, 209 et 387.

(3) Laache, *loc. cit.*, p. 98.

au litre; 1 équivalent de glucose réduisant 10 équivalents d'oxyde cuivrique, 1^{cc} de la solution exige 0^{gr},005 de sucre pour sa réduction complète;

2° Solution de 173 grammes de sel de Seignette pur dans 650^{cc} de soude de D = 1,12, étendue au litre.

Précautions à prendre.— 1° La liqueur cupro-potassique, préparée à l'avance, se réduit souvent spontanément quand on la chauffe seule. Mais elle se trouve toujours dans de bonnes conditions, quand on la prépare au moment du besoin par le mélange des deux solutions.

2° La réduction exigeant toujours un milieu alcalin, on devra mélanger l'urine avec de la potasse avant de la faire agir sur le réactif cuivrique, et éviter de chauffer le mélange alcalin, sans quoi la glucose se transforme en produits ulmiques qui ne réduisent plus l'oxyde cuivrique.

3° L'urine peut renfermer des principes qui modifient plus ou moins la réaction de la glucose. Toutes les urines normales, chauffées à l'excès avec une petite quantité de liqueur cuivrique, la décolorent. Sous l'influence de l'acide urique, surtout au-dessus de 70°, il se forme un trouble vert ou jaune, mais jamais de précipité rouge d'oxyde cuivreux. La créatinine, la xanthine, l'allantoïne, la mucine, la pyrocatéchine, l'hydroquinone et l'urobiline réduisent également l'oxyde cuivrique. L'ammoniaque provenant des sels ammoniacaux qui peuvent se trouver en quantité anormale dans l'urine, et l'albumine, qui colore en outre le liquide en rouge violacé (réaction du biuret) et la peptone, maintiennent l'oxyde cuivreux en solution.

Si l'urine est albumineuse, on devra éliminer au préalable l'albumine par la coction, en présence d'un peu d'acide acétique, puis alcaliniser le filtratum avant de le faire réagir sur le réactif cupro-potassique.

Pour éviter l'action nuisible de l'acide urique, de la créatinine et de la xanthine, etc., on devra employer un grand excès de réactif et une très petite quantité d'urine, ce qui atténue cette influence fâcheuse, sans diminuer beaucoup la sensibilité de la réaction de la glucose.

On pourrait aussi éliminer au préalable l'acide urique et certaines matières colorantes qui entravent la réaction en précipitant l'urine par l'acétate de plomb et éliminant l'excès de plomb par le sulfate de soude. Le liquide final servira à la recherche de la glucose. Il vaut mieux décolorer l'urine par l'acétate de plomb que par le noir animal, car Seegen (1) a démontré que le charbon pouvait absorber de la glucose et diminuer ainsi la richesse de l'urine en sucre.

Enfin, pour éliminer l'ammoniaque qui peut retenir l'oxyde cuivreux en solution, on se gardera de chauffer l'urine avec de la potasse avant de la mélanger à la solution cuivrique. On ajoutera l'urine alcalinisée à froid à un excès de liqueur de Barreswil; on portera à l'ébullition et on laissera reposer 2 ou 3 heures, au bout desquelles l'ammoniaque complètement dégagée laissera l'oxydule de cuivre se reprécipiter en rouge.

En abandonnant de même au repos, pendant plusieurs heures, l'urine glucosurique qui renferme de la peptone, la réaction d'abord négative deviendra positive pourvu que la quantité de glucose soit environ deux fois aussi forte

(1) Seegen, *Arch. de physiol.*, t. V, p. 375.

que celle de la peptone, ce qui est le cas ordinaire. On pourrait d'ailleurs éliminer cette dernière en traitant l'urine par l'acide chlorhydrique et le phosphotungstate de soude. Le liquide filtré sera alcalinisé par la potasse et traité ultérieurement par le réactif cupro-potassique.

Outre les éléments normalement contenus dans l'urine qui, à l'exclusion de la glucose, peuvent réduire ou décolorer la liqueur de Barreswil, on doit mentionner certaines substances dont l'absorption et le passage dans l'urine, sont capables de produire les mêmes effets. Telles sont la térébenthine, le chloroforme, l'hydrate de chloral, le benzoate de soude, la glycérine, le camphre, le nitrototuol, le copahu et le poivre cubèbe.

Manuel opératoire. — On verse dans un tube à essai 1[cc] de chacune des deux solutions destinées à former la liqueur cupro-potassique, on agite pour redissoudre le précipité bleu, on étend à 10[cc] environ avec de l'eau distillée et l'on porte à 70°. On prépare d'autre part l'urine, simplement alcalinisée à froid par la potasse après élimination de l'albumine s'il y en a, ou mieux encore, on la traite d'abord par l'acétate de plomb et le sulfate de soude. On verse quatre ou cinq gouttes du liquide urinaire dans le liquide bleu, et l'on chauffe de nouveau jusqu'à production de bulles de vapeur dans le mélange. La réduction en jaune, puis en rouge, se produit immédiatement et devient très visible, en regardant soit par transmission, soit dans la direction de l'axe du tube. Lorsqu'elle n'apparaît point, il faut laisser reposer le liquide et voir si, après quelques heures, il s'est formé un dépôt rouge. On ne devra conclure à la présence de la glucose que si le dépôt est rouge et non jaune ou vert.

2[e] Procédé. — **Recherche par la potasse (Heller, Moore).**

On porte à l'ébullition dans un tube à essai un mélange d'urine et de potasse caustique. Le liquide se colore en jaune plus ou moins foncé au contact de l'air, s'il contient de la glucose. Comme la mucine fait naître également cette même coloration, il importe de l'éliminer au préalable. Mais cette réaction n'a pas de valeur absolue, car elle réussit encore avec d'autres substances qui peuvent se trouver dans l'urine (pyrocatéchine, acide lactique de fermentation, acide formique, etc.). La rhubarbe et le séné donnant naissance à une coloration brun rouge.

3[e] Procédé. — **Recherche par le sous-nitrate de bismuth (Boettger).**

On a proposé aussi de chauffer l'urine avec un mélange de sous-nitrate de bismuth et de potasse qui noircit, par suite de la formation de bismuth métallique sous l'influence de la glucose. Le liquide doit être exempt d'albumine, car, à défaut de cette précaution, le soufre du composé albuminoïde pourrait former avec la potasse un sulfure alcalin qui colorerait en noir le sel de bismuth.

Pour éliminer toute trace d'albumine dans l'urine, Brücke (1) se sert du réactif bismuthique suivant : Solution de 15 grammes de sous-nitrate de bismuth récemment préparée et encore humide dans 20[cc] d'eau, contenant 7 grammes d'iodure de potassium, additionnée de 20 gouttes d'acide chlorhydrique.

(1) Brücke, *Sitzungsber. d. k. akadem. d. Wissensch. z. Wien*, 3[e] série, t. LXXII, p. 20, 1875.

On traite l'urine albumineuse par ce réactif en présence d'un excès d'acide chlorhydrique et l'on filtre. Le liquide, débarrassé par la filtration du précipité d'albuminate de bismuth et alcalinisé par la potasse, refiltré ou décanté pour éliminer l'excès d'oxyde bismuthique, est chauffé pour voir s'il se produit un dépôt noir sous l'influence de la glucose.

Ce procédé aurait l'avantage d'être applicable, malgré la présence de l'acide urique et de la créatinine qui n'ont pas d'action sur la solution potassique d'oxyde de bismuth.

Nous ne ferons que mentionner pour mémoire la fermentation possible de l'urine sucrée au contact de la levure de bière, ainsi que le réactif de Hager (1), mélange de cyanure jaune et de potasse caustique. En portant ce dernier à l'ébullition avec une urine sucrée, on obtient une coloration rouge brun foncé.

4e Procédé. — **Réactifs portatifs de la glucose.**

Comme pour l'albumine, le médecin peut avoir intérêt à caractériser la glucose dans l'urine, au lit même du malade. On peut utiliser dans ce but la décoloration de l'indigo bleu dans un milieu alcalin au contact du sucre : le liquide bleu, en passant par le violet et le rouge pourpre, arrive finalement au jaune pâle sous l'influence de la chaleur.

On prépare encore des bandelettes de papier à filtre blanc que l'on imbibe les unes d'une solution d'indigo bleu (carmin d'indigo), les autres de bicarbonate de soude concentré. Au moment du besoin, on introduit une bandelette de chaque sorte dans l'urine. Celle-ci se colore en bleu ; on la chauffe, et si elle renferme de la glucose, elle se décolore rapidement (réaction de Mülder).

c. *Extration de la glucose.*

On peut extraire la glucose des liquides aqueux en la précipitant par l'acétate de plomb et l'ammoniaque. Le précipité, mis en suspension dans l'alcool, est décomposé par l'hydrogène sulfuré. Le liquide filtré est évaporé et l'extrait redissout dans l'alcool absolu, puis additionné d'une solution alcoolique de potasse caustique. On recueille le précipité de glucosate de potasse qui se forme, on le dissout dans un peu d'eau et l'on sature par l'acide carbonique ; on ajoute de l'alcool absolu et l'on sépare par le filtre le carbonate de potassium. La solution alcoolique, évaporée en consistance sirupeuse à une douce chaleur et abandonnée au repos pendant quelques semaines, laisse cristalliser la glucose.

B. **Lévulose, sucre de fruits.**

On a constaté, mais très rarement, la présence de la lévulose, à côté de la glucose, dans l'urine des diabétiques (Zimmer, de Mehring, Haas). Sans nous appesantir sur les moyens propres à caractériser ce sucre, nous insisterons seulement sur ce fait qu'il produit sur la liqueur de Barreswil, exactement la même action que la glucose. Le réactif en question nous servira donc pour déceler indifféremment la présence de l'un ou de l'autre de ces composés.

(1) Hager, *Arch. der Pharm.*, juin 1886.

C. Sucre de lait.

La lactose a été trouvée en petite quantité, 1 p. 100 au maximum, dans l'urine de femme et des femelles d'animaux pendant le sevrage (Lehmann, de Sinéty). On peut soupçonner sa présence quand l'urine jouit d'un pouvoir réducteur très considérable, d'une action rotatoire à droite et que le sujet en outre est à l'état de sevrage. Mais ces propriétés peuvent être dues aussi à la présence de la glucose; aussi doit-on, pour caractériser la lactose, extraire préalablement ce sucre de l'urine. A ce sujet, nous ne ferons que mentionner le procédé de Hofmeister relatif à cette extraction (1).

D. Maltose.

M. Lenobel (2) a trouvé, dans les urines d'un malade, de l'albumine et un composé réduisant franchement la liqueur cupro-potassique. Il a reconnu que ce principe était de la maltose et attribue son apparition à une affection primitive du pancréas. Comme cet organe est impuissant à transformer en glucose la maltose en question, celle-ci pénétrerait dans le sang et passerait en nature dans les urines.

Le malade qui fait le sujet de cette observation avait le foie petit, douloureux à la percussion et rendait un son mat. Ses selles très acides avaient l'odeur de beurre rance.

E. Inosite.

a. *Conditions d'apparition dans l'urine.*

On a décelé l'inosite en petite quantité dans l'urine des albuminuriques (Cloetta, Neukomm). Dans le diabète sucré (Neukomm) elle apparaît, avant, avec ou après l'élément caractéristique de l'affection; mais on ne l'a pas rencontrée dans l'urine normale. D'après Strauss et Kulz, l'ingestion de grandes quantités d'eau la ferait apparaître dans les urines. Vohl a vu, dans une urine diabétique, le sucre remplacé peu à peu par l'inosite. Cependant son apparition dans le diabète est assez rare; Gallois l'a trouvé cinq fois seulement, et en proportion très variable, à côté de la glucose, chez 30 diabétiques, et deux fois dans 25 cas d'albuminurie.

b. *Procédés de recherche.*

On précipite l'urine, après élimination de l'albumine, par l'acétate de plomb sans excès ou de l'eau de baryte; on filtre et l'on concentre le liquide jusqu'au 1/4 au bain-marie, puis on le précipite par le sous-acétate de plomb. Après 12 heures de repos, le précipité plombique est réuni sur un filtre, lavé, mis en suspension dans l'eau et décomposé par l'acide sulfhydrique. On filtre de nouveau et l'on détermine par agitation la précipitation de l'acide urique. La solution claire, évaporée en consistance de sirop, est additionnée encore chaude de

(1) Hofmeister, *Zeitschr. f. Physiolog. Chemie*, t. I, p. 103.
(2) *Semaine médicale*, 1886.

trois à quatre volumes d'alcool : il se produit ainsi un précipité floconneux très adhérent qu'on redissout dans l'eau chaude en très petite quantité et qu'on additionne de nouveau d'alcool, jusqu'à commencement de trouble. On laisse refroidir pendant 24 heures, en recommençant au besoin la solution aqueuse et la précipitation alcoolique. On active la cristallisation et l'on assure la précipitation complète de l'inosite en mélangeant à l'alcool de l'éther jusqu'à trouble laiteux et abandonnant au froid. L'inosite se sépare sous forme de paillettes nacrées qu'on caractérise par l'une ou l'autre de ses réactions spéciales.

Suivant M. Cochot (1), la présence de l'inosite dans l'urine doit être soupçonnée quand l'essai par la liqueur de Barreswil abandonne un précipité floconneux vert chicorée.

DOSAGE DU SUCRE DANS LES URINES.

Nous ne nous occuperons ici que de la glucose, et nous admettrons, ce qui n'est pas tout à fait exact, que la lévulose a le même pouvoir réducteur, ce qui n'a d'ailleurs pas grande importance au point de vue clinique, vu la rareté de la présence de ce dernier sucre dans les urines. Pour le dosage rigoureux du sucre il faudrait recourir au procédé décrit par Neubauer (2).

Quant à celui de la lactose, nous n'en parlerons pas ici, puisqu'il n'a rien à voir dans la glucosurie vraie.

Le dosage de la glucose peut être effectué à l'aide de quatre méthodes différentes :

1° Méthode volumétrique basée sur l'emploi de liqueurs titrées réductibles par le sucre ;

2° Méthode polarimétrique ;

3° Méthode de la fermentation, détermination du poids d'acide carbonique produit lors de la transformation de la glucose en alcool :

$$C^6H^{12}O^6 = 2C^2H^6O + 2CO^2;$$

4° calcul de la quantité de sucre, en fonction de la différence de densité de l'urine avant et après la fermentation. Ce calcul est basé sur ce principe que toute différence de 0,001 dans la densité correspond à 0,219 p. 100 de sucre (Roberts, Smoler, Manasseïn, voir Neubauer et Vogel, p. 312).

Nous ne décrirons que les deux premières méthodes.

1re Méthode. — **Dosage volumétrique de la glucose.**

On peut employer trois procédés qui mettent à profit l'action réductrice de la glucose sur les solutions alcalines de certains sels métalliques. Dans le procédé de Barreswil (Fehling, Trommer) que nous employons exclusivement, la liqueur titrée est une solution potassique d'oxyde cuivrique en présence de l'acide tartrique ; dans celui de Knapp, on emploie une solution sodique de

(1) Cochot, *Journ. de pharm et de chim.*, 1883, t. II, p. 128.

(2) *Anal. des Harns*, 8e édit., 1881, p. 314.

cyanure de mercure. Enfin, la liqueur de Sachsse est formée d'iodure double de mercure et de potassium en solution potassique; ces deux dernières, chauffées au contact de la glucose, donnent un précipité de mercure métallique.

Procédé de la liqueur cupro-potassique.

Principe. — Une solution tartro-potassique d'oxyde cuivrique bleue est réduite à chaud par une solution de glucose, avec formation d'un précipité rouge d'oxyde cuivreux et décoloration du liquide. La réduction est complète quand le liquide filtré à chaud est incolore, n'est pas coloré en rouge par le mélange d'acide acétique et de cynaure jaune, et ne réduit pas une nouvelle quantité de réactif cuivrique.

Liqueurs titrées : 1° Solution de sulfate de cuivre et 2° solution potassique de sel de Seignette (de la page 96). Un mélange de 1^{cc} de l'une avec 1^{cc} de l'autre est exactement réduit par $0^{gr},005$ de glucose.

Manuel opératoire. — On mélange dans un tube à essai, de $0^{m},015$ de diamètre, 10^{cc} de solution de sulfate de cuivre et 10^{cc} de solution alcaline. On porte le liquide à 70-80°, et l'on y verse goutte à goutte, à l'aide d'une burette graduée, l'urine étendue de un ou deux volumes d'eau, jusqu'à ce que la coloration bleue du liquide disparaisse. La réaction est terminée quand une goutte du liquide, portée sur une double feuille de papier à filtre blanc donne, à l'envers, une tache qu'un mélange de cyanure jaune et d'acide acétique ne colore plus en rose (Boiret) (1), et qu'une autre partie, traitée par une nouvelle quantité de liqueur de Barreswil, ne donne pas de réduction. A ce moment, il n'y a plus dans le liquide de cuivre réductible, et la solution ne renferme plus de sucre. Soit n le nombre de centimètres cubes du liquide urinaire, étendu au 1/3, exigé pour la décoloration des 20^{cc} du mélange cupro-potassique.

Calcul. — La quantité de glucose contenue dans l'émission des 24 heures est donnée par la formule :

$$p \text{ de glucose} = 0{,}005 \times 10 \times \frac{E}{n/3}.$$

Remarque.— Si l'urine est albumineuse, on doit toujours éliminer l'albumine avant d'effectuer le dosage de la glucose; de même si elle est riche en acide urique, on fera bien de traiter l'urine par le sous-acétate de plomb, puis le filtratum par le sulfate de soude. Le liquide final sera employé au dosage de la glucose.

Pour tourner la difficulté qu'on éprouve à percevoir la décoloration du liquide bleu, par suite de l'oxyde de cuivre en suspension, Pavy et Battandier (2) se servent d'une solution ammoniacale contenant pour 100^{cc} de liqueur de Barreswil ($50^{cc} + 50^{cc}$), 125^{cc} d'ammoniaque; le mélange ne se réduit plus spontanément. On opère le dosage dans un matras à l'abri de l'air sur 20 ou 40^{cc} de liqueur ammoniacale dont la coloration bleue disparaît peu à peu par addition du liquide sucré, sans que l'oxyde cuivreux, soluble dans l'ammoniaque, se précipite; on peut ainsi juger exactement de la décoloration complète.

(1) Boiret, *Journ. de pharm. et de chim.*, 1882, p. 427.
(2) *Journ. de pharm. et de chim.*, 1880, p. 221.

2e Méthode. — **Dosage du sucre par le polarimètre.**

1° Saccharimètre à pénombre.

L'appareil le plus employé aujourd'hui en France est le saccharimètre à pénombre de Jellett, éclairé par une flamme monochromatique au sodium. L'urine décolorée est intercalée dans un tube de 20 centimètres de long entre le polariseur et l'analyseur, l'appareil étant réglé au préalable de façon que les deux moitiés du disque lumineux aient une intensité rigoureusement égale quand l'analyseur est au 0.

Préparation de l'urine. — L'albumine déviant le plan de polarisation à gauche, c'est-à-dire en sens inverse de la glucose, devra être éliminée complètement, au préalable, par l'addition au liquide de 1/10e d'une solution d'acide phosphotungstique fortement acide.

La détermination du pouvoir rotatoire de l'urine exige un liquide complètement incolore et limpide. On la décolorera, soit en l'agitant avec du noir animal, soit en la traitant par 1/10e de son volume de sous-acétate de plomb et filtrant. Dans ce dernier cas, on devra augmenter le pouvoir rotatoire constaté de 1/9e pour avoir celui de l'urine non étendue. On a vu précédemment que la décoloration par le noir animal présentait l'inconvénient de déterminer une perte dans la quantité de sucre contenue dans l'urine, perte due au pouvoir absorbant du noir par la glucose (Seegen), mais qui heureusement, dans les cas de diabète franc, n'a pas grande importance au point de vue clinique.

Calcul. — Chaque division du saccharimètre à pénombre correspondant à 2gr,064 de glucose par litre, sous une épaisseur de 20 centimètres, l'émission totale de l'urine contiendra une quantité de glucose donnée par la formule :

$$p \text{ de glucose} = 2{,}064 \times n \times \frac{E}{1000},$$

dans laquelle n est la déviation de l'urine non étendue, lue sur l'échelle saccharimétrique supérieure.

2° Polaristrobomètre de Wild.

Ainsi qu'on l'a dit page 49, cet appareil possède sur les autres polarimètres l'avantage d'éviter la comparaison des teintes des deux demi-disques de l'objectif, pour laquelle l'œil est d'une sensibilité très variable, et d'y substituer la disparition de lignes noires d'interférences vues sur fond jaune.

L'appareil doit aussi être éclairé à la lumière monochromatique du sodium. Il est réglé quand les franges disparaissent au moment de la coïncidence du 0 fixe avec le chiffre 50 de la graduation de la circonférence. Cette graduation est faite en degrés et cinquièmes de degré, facilement divisibles en deux parties à l'œil; la sensibité est donc de 1/10e de degré. Un vernier peut donner le 1/50e, soit 1'2.

Manuel opératoire. — L'urine est décolorée au préalable, puis introduite dans le tube de 20 centimètres de l'appareil réglé à 0°. S'il y a une déviation, on tourne la vis vers les nombres croissants jusqu'à disparition des franges et l'on fait la lecture de la déviation à 1/10e de degré près, soit (N—50).

Calcul. — Chaque degré correspond à $9^{gr},525$ de glucose par litre, sous une épaisseur de 20 centimètres. La quantité de glucose de l'émission pendant les 24 heures est donc exprimée par la formule :

$$p \text{ de glucose} = 9{,}525 \times (\mathrm{N} - 50) \times \frac{\mathrm{E}}{1000}.$$

Remarque. — Les résultats fournis par la polarisation s'éloignent souvent, en plus ou en moins, de ceux que donnent les procédés chimiques (Tschérinoff, Neubauer), ce qui peut s'expliquer, dans le premier cas, par la présence d'un sucre à pouvoir rotatoire plus fort que la glucose ordinaire, ou d'une autre substance dextrogyre mais non réductrice, et dans le second, par la présence d'une autre matière réductrice, de sucre lévogyre, ou de sucre inactif.

Ajoutons que l'urine doit être exempte d'albumine, dont on la débarrasserait au besoin par la coction, ou mieux encore par l'acide phosphotungstique qui élimine aussi les peptones.

3° **Dosage approximatif de Bouchardat.**

Pour calculer rapidement et approximativement la quantité de glucose contenue par litre dans une urine sucrée, Bouchardat multiplie par 2,1 les deux derniers chiffres de la densité de l'urine exprimée avec trois décimales, et retranche du résultat obtenu pour l'émission totale, le nombre 60 représentant la quantité moyenne des éléments autres que le sucre contenus dans l'urine.

Ainsi une urine sucrée de densité 1033 contiendrait une quantité du glucose exprimée par

$$p \text{ de glucose} = (33 \times 2{,}1) \frac{\mathrm{E}}{1000} - 60.$$

Le résultat ainsi obtenu s'écarte trop souvent du chiffre exact de glucose, calculée d'après les résultats de la liqueur de Barreswil, ou du saccharimètre et comporte des erreurs qui peuvent aller du simple au double. Aussi doit-il être laissé de côté.

3. MATIÈRES COLORANTES.

Les matières colorantes anormales que l'on peut rencontrer dans les urines sont assez nombreuses : ce sont celles de la bile, du sang, la mélanine, et celles qui résultent de l'absorption de certains médicaments tels que le phénol, le campêche, la rhubarbe, le séné et la santonine.

Nous y joindrons encore celles qui, contenues en faible proportion dans l'urine normale pour lui donner sa coloration, peuvent augmenter notablement sous certaines influences pathologiques, c'est-à-dire l'urobiline, l'uroxanthine, etc....

Les matières colorantes de la bile comprennent : la *bilirubine* et ses trois dérivés par oxydation, la *biliverdine*, la *bilifuscine* et la *biliprasine;* à ces composés s'ajoutent, comme produits d'une oxydation encore plus avancée, la *cholécyanine* (bilicyanine) et la *cholétéline*.

A. Matières colorantes de la bile.

α. Bilirubine.

a. *Conditions d'apparition dans l'urine.*

La présence de bilirubine a été constatée avec le plus de certitude dans l'urine ictérique fraîche. Celle des trois autres dérivés n'est pas aussi constante, car ces derniers se produisent avec la plus grande rapidité, aux dépens de la bilirubine, dans l'urine abandonnée au contact de l'air. Ces matières colorantes peuvent se trouver dans les sédiments d'urates qui les entraînent parfois avec eux en totalité.

Heynsius a constaté une fois l'apparition du spectre de la cholécyanine dans une urine ictérique; le même auteur et Campbell croient que la cholételine se trouve fréquemment dans l'urine ictérique, tandis que d'autres prétendent avoir décelé dans ces urines, soit à côté des matières colorantes biliaires, soit à leur place, la présence de l'urobiline (voir *Urines hémaphéiques*, p. 115).

L'intensité de teinte de l'urine ictérique n'a aucun rapport avec la quantité de bilirubine qu'elle peut renfermer. Riche en bilirubine, elle peut avoir une coloration faible; pauvre, au contraire, elle peut être foncée.

L'urine ictérique des 24 heures renferme de 2 à 15 milligrammes de bilirubine, au maximum 1 milligramme pour 100 centimètres cubes (Schwanda). L'injection d'une dissolution aqueuse de sang dans les veines produit de l'ictère avec apparition de bilirubine dans les urines (Tarchanars, Kühne).

Il résulte de là que toutes les circonstances dans lesquelles les globules sanguins sont détruits dans le système circulatoire et où l'hémoglobine passe en dissolution dans le plasma (empoisonnement par le phosphore, l'hydrogène arsénié ou les sels biliaires, etc.), provoqueront l'apparition de la bilirubine dans les urines.

La matière colorante de la bile qui passe dans l'urine peut donc avoir deux origines; ou bien elle provient du foie, à la suite d'un trouble dans la sécrétion biliaire et constitue l'*ictère hépatogène*, ou bien elle résulte de la transformation directe de l'hémoglobine dans le sang lui-même, d'où *ictère hématogène*.

La présence ou l'absence des acides biliaires dans l'urine à côté de la bilirubine, présence constatée dans la plupart des cas d'ictère, a été invoquée pour établir la distinction entre les deux variétés d'ictère, dont la dernière, l'ictère d'origine hématique donnerait des urines sans acides biliaires. On peut encore se baser sur la présence ou l'absence de la méthémoglobine, puisque Hoppe-Seyler a rencontré la bilirubine dans presque toutes les urines qui contiennent de la méthémoglobine en dissolution.

b. *Procédés de recherche.*

Les urines bilieuses sont jaunes, brunes ou vertes; elles moussent fortement, et leur mousse est jaunâtre avec reflet nacré, tandis que celle d'une urine foncée non ictérique est blanche. Un papier à filtre blanc qu'on y plonge se colore en jaune plus ou moins verdâtre. La présence du pigment biliaire est caractérisée par l'un des procédés suivants :

1° *Emploi de l'acide nitrique (réaction de Tiedmann et Gmelin)* (1). — Cette réaction, caractéristique à la fois de la bilirubine, de la biliverdine et de la biliprasine, est encore celle qui, dans la plupart des cas, donne les résultats les plus certains. On verse 10 ou 15 centimètres cubes d'urine dans un verre à pied puis en inclinant le verre et sans agiter, une quantité égale d'acide azotique rendu *légèrement* rutilant par son exposition à la lumière. A la surface de séparation des deux liquides, le pigment biliaire oxydé donne un anneau d'abord vert qui s'élève peu à peu dans l'urine et se colore à sa partie inférieure successivement en bleu, violet, rouge et enfin en jaune.

La coloration verte seule est caractéristique des matières colorantes de la bile, car des anneaux bleus et violets peuvent se produire avec des éléments normaux de l'urine, tels que l'indican. Il est important que l'acide azotique ne renferme que des traces d'acide azoteux, sans quoi la réaction devient irrégulière, et les colorations disparaissent très vite par suite d'une formation trop rapide de cholétéline.

La réaction de Gmelin a été modifiée par divers auteurs : Rosenbach (2) jette l'urine bilieuse sur du papier blanc et laisse tomber sur le filtre humide une goutte d'acide azotique qui produit des zones concentriques colorées de dedans en dehors en jaune orange, violet, bleu et vert.

Méhu (3) précipite les pigments par saturation de l'urine, légèrement acidulée par l'acide sulfurique au moyen du sulfate ammoniaque, filtre, et traite le papier desséché par l'acide azotique.

Fleischl (4) traite l'urine mélangée d'azotate de potassium en solution concentrée par de l'acide sulfurique, toujours sans mélanger les liquides.

Vitali (5) ajoute à l'urine une goutte de solution d'azotite de potassium et un peu d'acide sulfurique étendu, et prétend caractériser ainsi la présence de traces de pigment biliaire.

Masset (6) additionne d'abord l'urine d'acide sulfurique et y laisse ensuite tomber un fragment d'azotite de soude; sous l'influence du réactif, la coloration verte passe directement au jaune, sans devenir d'abord rouge ou bleu, ce qui évite toute confusion avec l'indican.

Ultzmann (7) mélange 10 centimètres cubes d'urine avec 3 à 4 centimètres cubes de solution d'hydrate de potassium exactement au 1/4 et agite au contact de l'air pour transformer la bilirubine en biliverdine, puis sature d'acide chlorhydrique; l'urine bilieuse prend une magnifique coloration vert émeraude.

On peut encore déceler des traces de bilirubine dans l'urine en épuisant un volume assez considérable de celle-ci par le chloroforme (10 pour 1) dans un entonnoir à boule. Quelques centimètres cubes de la solution chloroformique décantée, traités par l'acide nitrique légèrement nitreux, donnent naissance aux zones colorées de Gmelin, mais cette fois de haut en bas (Ultzmann).

(1) Tiedmann et Gmelin, *Die Verdauung nach Versuchen*, 1826, t. I, p. 80.
(2) Rosenbach, *Revue des Sciences médicales*, 1876, t. VII, p. 496.
(3) Méhu, *Traité d'analyse des urines*.
(4) Fleischl, *Zeitschr. f. Anal. Chem*, t. XV, p. 502.
(5) Vitali, *Jahrebesricht ü. d. Fortschrifte der Thierchemie*, 1873, p. 149.
(6) Masset, *Zeitschr. f. Anal. Chem.*, t. XIX, p. 255.
(7) Ultzmann, *Wiener medic. Presse*, 1877, n° 32.

Swanda évapore l'urine au bain-marie, jusqu'à siccité, épuise le résidu par l'eau, dessèche de nouveau la partie insoluble et l'épuise ensuite par le chloroforme; la solution chloformique est traitée par l'acide nitrique.

On ne pourrait essayer avec l'acide azotique un extrait alcoolique, pour y rechercher les pigments biliaires, car l'alcool seul donne avec cet acide une série de couleurs analogues, par suite de la formation de dérivés moins oxygénés de l'azote.

On a proposé comme agent d'oxydation indirect, pour remplacer l'acide azotique, la teinture d'iode et l'eau de brome.

2° *Emploi du sulfodiazobenzol* (*Ehrlich*). — L'urine additionnée de son volume d'acide acétique dilué est traitée par le réactif suivant ajouté goutte à goutte : acide sulfanilique 1 gramme, acide chlorhydrique 15 centimètres cubes, nitrite de sodium 0,1 p. 1000 d'eau distillée. Si le liquide prend une teinte foncée, l'addition d'une nouvelle quantité d'acide acétique fait apparaître une coloration violette caractéristique de la bilirubine.

Cette réaction ne réussit qu'avec la bilirubine et non avec ses dérivés et ne peut donc remplacer celle de Gmelin qui décèle la plupart des matières colorantes de la bile.

Remarques. — 1) La présence de l'albumine ne gêne en rien la réaction de Gmelin dans les urines riches en matières colorantes biliaires; au contraire, le coagulum blanc d'albumine fait mieux ressortir la zone verte due à la biliverdine. Il n'en est plus de même si l'urine ne renferme que peu de pigment, car l'albumine détermine la formation, au-dessus de l'anneau rouge, d'un anneau gris à la place où devait se trouver le vert dont la teinte se trouve considérablement atténuée. On devra donc, dans ce cas, éliminer d'abord l'albumine par la coction; et comme le coagulum d'albumine peut entraîner de petites quantités de bilirubine, on devra encore, après dessiccation, l'épuiser par le chloroforme.

2) De faibles quantités de pigment biliaire ne sont que très difficilement reconnues par l'acide azotique, dans les urines foncées ou riches en indican; ces derniers, en particulier, donnent naissance, sous l'influence du réactif, à du bleu d'indigo qui, mélangé au jaune de l'urine, peut paraître vert. En pareil cas, Vitali recommande son procédé pour éviter cette cause d'erreur. Mais il sera toujours préférable d'extraire la bilirubine de l'urine par la méthode de Swanda (1), par exemple, ou de la caractériser par le procédé suivant :

On alcalinise l'urine par le carbonate de soude, puis on l'additionne de chlorure de calcium ou de baryum, tant qu'il se forme un précipité coloré ou tout simplement, on la précipite directement par de l'eau de baryte (Hilger) (2) ou, par un lait de chaux (Ruppert) (3) en excès. La couleur du précipité est jaune dans le cas d'une urine ictérique, blanc quand il s'agit d'une urine normale. On chauffe le précipité recueilli sur filtre, après addition de quelques gouttes d'acide sulfurique étendu, et l'on obtient une coloration verte, soit de la partie insoluble, soit du liquide surnageant. On pourrait encore épuiser, par le chloroforme, le préci-

(1) Swanda, *Zeitschr. f. Anal. Chem.*, t. VI, p. 501.
(2) Hilger, *Arch. der Pharm.*, sér. 3, t. VI, p. 385.
(3) Ruppert, *Arch. d. Heilk*, t. VIII, p. 351 et 476.

pité terreux acidulé par l'acide chlorhydrique et soumettre la solution chloroformique à la réaction de Gmelin.

3) On reconnaît facilement la présence de matières colorantes biliaires dans les sédiments uriques, en traitant par l'acide azotique leur solution dans le carbonate de soude sans excès.

β. Biliprasine.

L'urine qui renferme de la biliprasine donne directement une coloration verte, par addition d'acide chlorhydrique.

γ. Cholécyanine.

La cholécyanine ou bilicyanine est caractérisée par son spectre d'absorption, lequel présente trois bandes noires qui varient d'épaisseur suivant que la solution est neutre, acide ou alcaline (1).

δ. Cholétéline.

La présence du terme ultime de l'oxydation de la bilirubine, la cholételine, est également démontrée à l'aide du spectroscope (2).

Appendice. Urines médicamenteuses.

Les urines émises après l'ingestion de *rhubarbe*, de *séné*, de *santonine* ou de préparations de *bois de campêche*, ont une grande ressemblance avec les urines ictériques. Leur coloration est jaune ou jaune verdâtre, et vire, sous l'influence des alcalis, au rouge pour les trois premiers corps, au bleu violacé pour l'hématoxyline du campêche, et reprend sa teinte primitive sous l'influence des acides. En outre l'acide azotique décolore partiellement ces urines, tandis qu'il fonce les urines bilieuses et sanguinolentes.

On peut caractériser les substances qui ont modifié la couleur de l'urine à l'aide des réactions suivantes : sous l'influence du carbonate de soude, l'urine à la rhubarbe vire immédiatement au rouge, tandis que l'urine à la santonine ne devient rouge qu'au bout de 1/2 à 1 minute. Cette coloration rouge de l'urine à la rhubarbe disparaît par la digestion sur de la poudre de zinc, celle de la santonine persiste. L'eau de baryte et le lait de chaux précipitent l'urine à la rhubarbe en rouge, le liquide surnageant restant incolore; dans le cas de la santonine, le précipité est incolore et l'urine reste rouge (Munk). Enfin l'urine à la rhubarbe donne avec le sous-acétate de plomb un précipité rouge amaranthe (Kletzinsky).

B. Mélanine.

L'urine des malades atteints de tumeurs mélaniques prend parfois, sous l'influence du simple contact de l'air ou d'agents oxydants, tels que l'acide azotique et l'acide chromique, une coloration brune sombre et même noire (Eiselt). La matière chromogène qui produit ce changement de couleur a été étudiée par

(1) Heynsius et Campbell, *Pflüger's Archiv.*, 1874, t. IV, p. 520.
(2) Heynsius, *Pflüger's Archiv.*, t, IV, p. 546.

Pibram et Ganghofer (1). Elle est précipitée incomplètement de l'urine par les terres alcalines, mais en totalité par le sous-acétate de plomb. Le précipité blanc obtenu, mis en suspension dans l'eau, subit les changements de couleur de l'urine elle-même. Décomposé par l'acide sulfurique, il donne une solution incolore que l'évaporation colore fortement en provoquant la formation d'un précipité noir amorphe.

Le pigment noir des urines mélaniques n'est pas précipité quand on sature le liquide avec du sulfate d'ammonium (Méhu) (2).

C. Matières colorantes du sang.

Les matières colorantes du sang que l'on a trouvées dans l'urine sont : l'*hémoglobine* et son dérivé la *méthémoglobine*. La présence de l'hématine n'est rien moins que démontrée.

α. Hémoglobine.

a. *Conditions d'apparition dans l'urine.*

L'hémoglobine apparaît dans les urines sous deux formes, incorporée aux globules sanguins ou en dissolution dans le liquide. L'hémoglobine incorporée aux globules du sang (*hématurie*) se trouve dans les urines à la suite d'hémorrhagies des reins ou des voies urinaires. Elle existe en solution (*hémoglobinurie*) à la suite de certains empoisonnements (hydrogène arsénié, phénol), après de fortes brûlures, à la suite de la transfusion du sang d'une espèce animale dans les veines d'une autre espèce (de Recklinghausen, Hoppe-Seyler), dans certaines affections pathologiques (hémoglobinurie paroxysmale, hémoglobinurie épidémique des enfants, scorbut, fièvre typhoïde, putride, intermittente, pernicieuse, exanthémique, etc.).

Suivant Hoppe-Seyler (3) la matière colorante du sang qui se trouve en dissolution dans le sang serait tout d'abord de la méthémoglobine, laquelle se transformerait ultérieurement en oxyhémoglobine.

b. *Procédés de recherche.*

L'urine qui renferme des globules sanguins est trouble et d'une coloration plus ou moins rapprochée de celle du sang, quelquefois brunâtre avec une nuance verdâtre. Celle qui contient l'hémoglobine en solution est d'une couleur comprise entre le rouge et le noir (vin de Porto), elle peut être transparente ou, au contraire opaque, quand elle est riche en hémoglobine.

Dans tous les cas, l'urine qui renferme la matière colorante du sang, sous l'une quelconque des deux formes indiquées, est toujours *albumineuse*. On ne peut conclure à la présence de l'hémogloline dissoute que quand, par un repos prolongé, on a laissé, aux globules sanguins qui peuvent colorer l'urine, le temps

(1) Pribram, *Prager Vierteljahreschrift*, 1865, t. LXXXVIII, p. 16. — Pribram et Ganghofner, *Prager Vierteljahreschrift*, 1876, t CXXX, p. 77.

(2) Méhu, *loc. cit.*, p. 105

(3) Hoppe-Seyler, *Zeitschr. f. Physiol. Chemie*, t. V, p. 6.

de se tasser; car qu'elle soit en dissolution ou en suspension dans les globules, elle sera caractérisée toujours par les mêmes réactions.

1° *Examen spectroscopique.* — On introduit une partie de l'urine, légèrement acidulée au préalable avec de l'acide acétique au cas où elle serait alcaline, dans une cuve en verre analogue au lactoscope de Donné, de façon à faire varier l'épaisseur de la couche liquide. On place l'appareil entre le collimateur et la flamme du spectroscope, et l'on cherche, en augmentant ou diminuant l'épaisseur du liquide, les deux bandes d'absorption caractéristiques de l'hémoglobine que l'on distingue plus ou moins nettement s'il y a de l'hémoglobine dans l'urine; sinon la place où doivent se trouver ces bandes garde sa coloration (jaune et vert). Il est bon de se servir du deuxième spectre de comparaison qu'on laisse pur. On doit éviter d'étendre l'urine, au risque de diminuer la sensibilité de l'examen spectroscopique.

L'urine renferme des matières colorantes normales qui empêchent de voir les bandes de l'hémoglobine aussi nettement que si, à concentration égale, ce composé était en dissolution dans l'eau. Les matières colorantes qui gênent la recherche de la matière colorante du sang, telles que la méthémoglobine, l'urobiline, les pigments biliaires, sont précipitées par l'acétate de plomb ammoniacal, tandis que l'hémoglobine reste en dissolution.

Le doute qui peut subsister à la suite d'une recherche spectroscopique du sang disparaît par la détermination de la portion exacte des deux bandes d'absorption. Celles-ci, d'après la détermination de Vierordt (1) se trouvent : la première, entre D7E et D15E, et l'autre, entre D64E et D37E, et pour l'hémoglobine réduite, entre D19E et D54E. Ces bandes sont d'ailleurs encore très visibles, même avec les traces de ces produits en solution (Voir pour le maniement du spectroscope, p. 14).

2° *Coagulation de l'albumine.* — Le procédé de la coction appliqué à une urine sanguinolente donne un coagulum qui, au lieu d'être blanc, est plus ou moins coloré en brun en raison des produits d'altération de l'hémoglobine (hématine et méthémoglobine). La solution dans l'alcool sulfurique, faite à une douce chaleur, présente au spectroscope les bandes d'absorption de ces composés.

3° *Précipitation des phosphates terreux* (*Heller*) (2). — On traite l'urine par quelques gouttes d'une solution de potasse ou de carbonate de soude jusqu'à réaction fortement alcaline, on porte à 100° et on laisse refroidir. Les phosphates se précipitent en laissant un liquide de coloration vert bouteille et entraînent avec eux la matière colorante du sang transformée en hématine, sous forme de flocons d'un rouge sang ou rouge brun par transmission, avec reflet verdâtre par réflexion. Cette réaction, très sensible, ne l'est plus autant dans le cas d'urines foncées ou ictériques. On recueille le précipité dont la coloration est assez douteuse, et on le traite par l'acide acétique : on obtient alors une solution rouge qui se décolore peu à peu à l'air.

On a vu précédemment que les urines jaunes, émises après l'usage interne du séné, de la santonine, de la rhubarbe, virent également au rouge sous l'influence

(1) Vierordt, *Zeitschr. für Biologie*, 1874, t. X, p. 29.
(2) Heller, *Zeitschr. d. k k. Gesellsch. d. Aertzte zu Wien*, t. XLVIII, 1858.

des alcalis; le précipité de phosphates, coloré par ces matières, se dissout en jaune citron dans l'acide acétique, et la coloration vire au violet au contact de l'air.

4° *Préparation de l'hémine.* — Le précipité obtenu dans la réaction précédente peut servir à la préparation des cristaux d'hémine (Voir analyse des taches du sang, p. 186). On peut également utiliser dans ce but le précipité obtenu, en traitant par le tannin, puis par l'acide acétique sans excès l'urine préalablement alcalinisée par l'ammoniaque; les moindres quantités d'hémoglobine sont entraînées par le tannin et l'on peut, en préparant les cristaux de Teichmann, reconnaître nettement, par ce procédé, la présence d'une goutte de sang diluée dans 450 centimètres cubes d'urine (Berg).

c. *Origines du sang.*

Il est souvent très utile de déterminer si le sang trouvé dans les urines provient du rein ou des organes excréteurs; ce diagnostic différentiel qui offre parfois de grandes difficultés, peut être établi en tenant compte des remarques suivantes :

Dans l'*hémorrhagie vésicale*, l'urine qui s'écoule au commencement de la miction est beaucoup moins colorée que celle de la fin. En outre, elle est d'un rouge vif; sa réaction est ordinairement alcaline et la proportion d'albumine est relativement faible (0,2 p. 100 au maximum dans les urines d'un rouge noir); enfin elle renferme, assez souvent, des caillots fibrineux assez étendus.

Quand il s'agit d'*hémorrhagie rénale*, le mélange du sang et de l'urine présente une réaction acide; la proportion d'albumine est relativement considérable, bien qu'il y ait en général peu de sang de perdu, sauf dans les cas de lésions traumatiques et de cancer. On trouve, en outre, dans le liquide des cylindres hématiques caractéristiques, des cylindres fibrineux et des corpuscules de pus dans le cas d'une maladie de Bright primitive.

L'*hémorrhagie uréthrale* est généralement peu abondante; on ne trouve de sang que dans les premières gouttes de l'émission.

On ne devra pas oublier que, chez la femme, le sang peut provenir des organes génitaux.

β. **Méthémoglobine.**

Ce composé est le résultat de l'oxydation partielle de l'hémoglobine dans un milieu acide tel que l'urine. Inversement, la méthémoglobine sous l'influence de la putréfaction régénère, par réduction, l'hémoglobine qui, au contact de l'air, passe à l'état d'oxyhémoglobine. Cette méthémoglobine a été trouvée dans le sang (empoisonnement par le chlorate de potassium) et dans l'urine. On a vu, d'après Hoppe-Seyler, que l'urine fraîchement émise renfermait primitivement, dans les cas d'hémoglobine, de la méthémoglobine; celle-ci se transformait, par l'abandon du liquide à lui-même, d'abord en hémoglobine puis en oxyhémoglobine.

La méthémoglobine est caractérisée par son spectre d'absorption qui présente

trois bandes. En solution neutre, il est identique avec celui de l'hématine dissoute dans l'alcool acidulé et très voisin de celui de la bilicyanine en solution acide. les bandes sont placées : la première, entre C15D et C65D ; la seconde, entre D8E et D30E ; la troisième, entre D73E et E5F (Vierordt) (1).

Rappelons qu'on peut séparer l'hémoglobine de la méthémoglobine en précipitant celle-ci par l'acétate de plomb ammoniacal.

L'urine peut renfermer des matières colorantes étrangères, qui nuisent à la recherche spectroscopique de la méthémoglobine, soit qu'elles-mêmes présentent des bandes d'absorption superposables à celles de l'hémoglobine, soit qu'elles foncent la teinte du liquide (pigments biliaires, urobiline).

On élimine les pigments biliaires par le mélange d'ammoniaque et de chlorure de calcium; on précipite ensuite le liquide filtré par le sous-acétate de plomb qui entraîne la méthémoglobine avec l'urobiline, et laisse l'hémoglobine en solution; le précipité plombique, décomposé par le carbonate de soude, donne une solution qu'on examine au spectroscope.

γ. Urorubrohématine.

Baumstark a retiré de l'urine d'un lépreux deux matières colorantes pathologiques bien caractérisées qui semblent avoir des rapports intimes avec l'hématine, et qu'il a nommées *urorubrohématine* et *urofusohématine* (2). Au commencement de l'affection l'urine était rouge foncée; elle devint peu à peu rouge brun, et aux approches de la terminaison fatale, brun foncé presque noir.

D. Matières colorantes phéniquées.

L'urine normale de l'homme et des animaux renferme, surtout à la suite d'une alimentation végétale, des phénols en minime quantité, tels que le phénol ordinaire, le crésol, la pyrocatéchine, sous la forme de dérivés sulfoconjugués (Buliginsky (3) et Hoppe-Seyer) (4), auxquels il faudrait joindre l'indican que nous étudierons plus loin. Ces dérivés sulfoconjugués ne sont pas volatils, résistent à l'action de l'acide acétique même à chaud, mais sont décomposés par les acides minéraux en leurs éléments constituants : acide sulfurique et phénols. On a utilisé ces propriétés, découvertes par Baumann (5), pour le dosage de l'acide sulfurique dans l'urine sous ses diverses formes (p. 60).

Normalement les proportions de ces composés existant dans l'urine sont très faibles et n'ont aucune influence sur sa couleur. Dans d'autres circonstances, au contraire, elles augmentent notablement, et l'urine subit en même temps des modifications profondes dans sa coloration, modifications qui nous font placer ici l'étude de ces corps.

(1) Vierordt, *Die Quantitative Spectralanalyse*, Tubingen, 1876, p. 60.

(2) Baumstark, *Berichte der Chemisch. Gesellsch.* t. VII, p. 1170, et *Pflüger's Archiv.*, t. IX, p. 568, 1874.

(3) Buliginski et Hoppe-Seyler, *Med. Chem. Untersuchungen*, 1866 p. 234.

(4) Hoppe-Seyler, *Pflüger's Archiv.*, t. V, p. 470.

(5) Baumann, *Zeitschr. f. Physiol. Chem.*, t. II, p. 134.

α. Phénol C^6H^5OH.

a. *Conditions d'apparition dans l'urine.*

Le phénol, trouvé pour la première fois par Stœdeler dans l'urine de vache, existe dans ce liquide sous forme d'acide phénylsulfurique $C^6H^5OSO^2OH$. L'urine de l'homme n'en contient que des traces, 0gr,3 par 24 heures dans le cas d'un régime mixte.

La proportion augmente notablement chez les herbivores à la suite d'une alimentation exclusivement végétale (0gr,9 dans 1 litre d'urine de cheval) ainsi que chez d'autres animaux, les chiens par exemple, soumis à un traitement expérimental consistant en : absorption de phénol par voie interne ou externe, injestion de benzine qui se transforme par l'oxydation en phénol, introduction dans l'organisme d'acide paroxybenzoïque qui se décompose en acide carbonique et phénol.

Il en est de même dans certaines affections (Salkowski et Brieger), telles que l'étranglement interne, surtout à la partie inférieure de l'intestin grêle ou au niveau du gros intestin, la péritonite (résorption des produits de la putréfaction intestinale), les suppurations surtout avec résorption purulente et la pyohémie.

En même temps que le phénol, l'indican augmente alors dans l'urine, mais il n'en résulte pas qu'une urine riche en phénol doive l'être également en uroxanthine.

Chez l'homme, aussi bien que chez les herbivores, le crésol constitue la majeure partie des dérivés phéniqués qui passent en quantité exagérée dans les urines (Baumann et Brieger) (1); et comme on dose presque toujours en même temps le phénol et le crésol, il s'ensuit qu'il n'existe pas de données absolues sur la richesse exclusive de l'acide phénique dans l'urine.

b. *Procédés de recherche.*

α. *Coloration de l'urine.* — A la suite de l'absorption du phénol par voie externe ou interne, la coloration de l'urine se fonce, devient vert olive, brun foncé et même noire; il en est de même après l'usage de frictions au goudron.

La coloration noire paraît se développer surtout au contact de l'air et par suite se propager dans l'urine au repos, de haut en bas (Maly).

Elle se produit encore après l'ingestion de substances aromatiques, telles que l'hydroquinone, la pyrocatéchine, l'aniline, l'acide salicylique, le paramidophénol. Cette coloration des urines phénoliques tient probablement à la production de plusieurs dérivés par oxydation de l'hydroquinone (Baumann et Preusse).

Après son absorption, le phénol s'oxyde particulièrement lors de son passage à travers l'économie, et se transforme en hydroquinone dont la majeure partie subit une oxydation plus avancée, tandis que le reste apparaît dans les urines sous forme d'acide sulfoconjugué.

Ces urines colorées cèdent à l'éther une matière brune soluble dans l'eau et qui devient brun noir par l'addition d'ammoniaque; elle ne réduit pas plus le nitrate d'argent qu'elle ne se transforme en quinone par oxydation. Cette substance n'est donc ni de la pyrocatéchine, ni de l'hydroquinone.

(1) Baumann et Brieger, *Bericht. d. Chem. Gesellschaft*, t. XII, p. 804.

Une urine qui contient le dérivé sulfoconjugué de l'hydroquinone, traitée par les alcalis, met en liberté son diphénol, lequel s'oxyde à l'air avec transformation en produits bruns qui la colorent. L'urine dans laquelle on introduit de l'hydroquinone se comporte de la même façon. Il est probable que la pyrocatéchine qui se trouve aussi dans les urines phénoliques subit des transformations analogues à l'hydroquinone et concourt, pour une certaine partie du moins, aux changements de coloration de l'urine.

b. *Recherche chimique.* — Pour déceler la présence du phénol dans l'urine, on distille un litre d'urine additionnée de 5 p. 100 d'acide sulfurique, tant que le liquide qui passe à la distillation se trouble par l'addition d'eau bromée ou se colore en rouge après addition de quelques gouttes de réactif de Millon et d'acide nitrique à chaud jusqu'à disparition du précipité d'abord formé.

Le produit de la distillation est alors soumis aux réactions suivantes :

1° Addition de chlorure ferrique neutre qui y fait naître une coloration d'un beau bleu violet ;

2° Par l'eau bromée ajoutée jusqu'à légère coloration jaune, il se produit un précipité cristallin blanc jaunâtre de tribromophénol (réaction sensible à 1/40.000) ;

3° Le liquide phénolique en présence de 5 ou 10 gouttes de réactif de Millon et chauffé, puis additionné d'acide azotique en excès à chaud, prend une belle coloration rouge qui persiste durant plusieurs jours (Almen) ;

4° Par l'addition d'ammoniaque sans excès, puis d'hypochlorite de soude, on voit apparaître une belle coloration bleue, qui vire au rouge sous l'action des acides et repasse au bleu par les alcalis (Berthelot) ;

5° Lorsqu'on ajoute une goutte d'aniline et de quelques centimètres cubes d'hypochlorite de soude, on aperçoit une belle coloration bleue se développant lentement, mais persistant pendant des semaines (Jacquemin).

La quatrième réaction réussit assez difficilement. On peut remplacer l'hypochlorite de soude par de l'eau bromée récente : la coloration bleue obtenue dans ces conditions persiste pendant très longtemps.

Si le liquide distillé est trop étendu au point de ne pas fournir nettement les réactions du phénol, on le sature à chaud par du carbonate de soude et on l'épuise par l'éther. Les solutions éthérées, évaporées à la température ordinaire, laissent un léger résidu qui contient tout le phénol extrait de l'urine et que l'on soumet à l'une des réactions décrites précédemment.

c. *Dosage du phénol.* — On opère sur la plus grande quantité possible de liquide (au moins 1 litre), concentré d'abord au 1/5e, après alcalinisation par la potasse (Munk). Le produit de la distillation est additionné d'eau bromée récente jusqu'à coloration jaune persistante, puis abandonné pendant deux ou trois jours à la température ordinaire. Il se forme un précipité jaune de tribromophénol $C^6H^2Br^3.OH$, qu'on recueille sur un filtre taré et qui, après lavage à l'eau et dessiccation sur l'acide sulfurique, est pesé ; il renferme 28,4 parties p. 100 de phénol.

Comme le tribromophénol décompose l'iodure de potassium (Beckurtz), on a basé sur cette réaction une nouvelle méthode de dosage extrêmement sensible, qui se résume, comme on le voit, à une détermination volumétrique d'iode

(Koppeschar) (1). Ce procédé nous paraît être applicable également au dosage du phénol dans l'urine.

β. Pyrocatéchine, $C^6H^4(OH)^2$.

La pyrocatéchine existe surtout dans l'urine de cheval. Cependant elle fait également partie de l'urine humaine d'où elle a été extraite pour la première fois, mais à l'état impur, par Boedecker qui lui donna le nom d'alcaptone: l'urine alcalinisée se colorait en brun par suite d'une absorption d'oxygène et réduisait fortement la liqueur de Barreswil.

Elle apparaît dans les urines après l'ingestion de phénol ou de benzol et de l'acide protocatéchique $C^6H^3(OH)^2$ COOH.

La recherche de cette pyrocatéchine ne présentant pas un intérêt immédiat, nous renvoyons, pour le procédé à mettre en œuvre, au traité de Neubauer et Vogel (*loc. cit.*, p. 76).

Le résultat n'a pas une valeur absolue, puisque l'on obtient un précipité mixte renfermant du phénol et du crésol.

E. Matières colorantes et chromogènes normales.

En se basant sur les résultats de ses recherches spectrophotométriques, Vierordt (2) admet que l'urine humaine renferme plusieurs matières colorantes. Celle qui y préexiste est encore mal connue, et n'est pas plus constituée par de l'urobiline que par l'un des autres pigments.

D'ailleurs la description, faite par Schérer, des divers principes colorés qui résultent de la transformation de la matière chromogène de l'urine ne concorde pas avec celle des produits colorés de décomposition, provenant de la substance qu'on a réussi à isoler.

Les divers pigments qui font partie constituante de l'urine normale sont l'*urobiline* de Jaffé, l'*urochrome* de Thudichum, l'*indican* ou *uroxanthine* de Heller, l'*uroérythrine* de Simon, auxquels on peut joindre l'uriane et l'urianine de Schunk et l'urohématine de Harley. Nous étudierons les premiers en détail, mais nous nous contenterons de ne mentionner que les autres à cause de leur importance secondaire.

α. Urobiline, $C^{32}H^{40}Az^4O^7$.

L'urobiline (hydrobilirubine de Maly) (3) est un des éléments constitutifs, aussi bien de l'urine normale que de l'urine pathologique (Jaffé) (4). Identique à la stercobiline, trouvée dans des fèces par Vanclair et Masius (Jaffé) (5), elle a été obtenue par la réduction de la bilirubine et de la biliverdine au moyen de

(1) *Union pharm.* Juillet 1887.

(2) Vierordt, *Die Quantitative Spectralanalyse*, p. 81.

(3) Maly, *Ann. d. Chem. und Pharm.*, 1872, t. CLXIII, p. 77.

(4) Jaffé, *Centralblatt f. d. Med. Wissensch.*, 1868, p. 243 ; et *Virchow's Archiv.*, 1869, t. XLVII, p. 405.

(5) Jaffé. *Jahresber. f. Thierchemie.*, t. 1 p. 230.

l'amalgame de sodium, de l'hématine et de l'hémoglobine sous l'influence d'un mélange de zinc et d'acide chlorhydrique (Hoppe-Seyler) (1).

a. *Conditions d'apparition dans l'urine.*

Il résulte des recherches de Jaffé que l'urobiline ne préexiste que rarement dans l'urine humaine au moment de son émission, mais qu'elle s'y développe spontanément et lentement au contact de l'oxygène de l'air et plus rapidement en présence des acides surtout minéraux.

L'urine claire et pâle au sortir de la vessie, se fonce peu à peu et présente alors seulement le spectre d'absorption caractéristique de l'urobiline.

La même transformation s'effectue rapidement au contact des oxydants, par exemple le permanganate de potasse (Moss).

D'après cela il existe donc dans l'urine une substance chromogène génératrice de cette urobiline, substance que Disqué (2) paraît avoir obtenue en réduisant l'hydrobilirubine de Maly par l'amalgame de sodium, et mieux encore par le zinc et l'acide chlorhydrique.

Certaines urines pathologiques, surtout dans les fièvres et dans les maladies chroniques du foie, présentent une coloration foncée, analogue à celle d'une infusion de rhubarbe, et même quelquefois d'un rouge de sang : elles contiennent de l'urobiline préexistante en plus grande quantité qu'à l'état normal, bien que Vierordt n'en ait trouvé que de 1/32 à 1/16 pour 1.000 dans des urines fébriles. Cette urobiline est alors entraînée, pendant le refroidissement de l'urine, par les sédiments briquetés d'urates, dans lesquels elle est associée à l'uroérythrine.

L'urobilinurie se rencontre encore à la suite d'hémorrhagies (apoplexie cérébrale, infarctus hémorrhagique du poumon, hématocèle rétro-utérin, grossesse extra-utérine (Dick), hémorrhagies traumatiques, etc.). Dans ces cas, l'urobiline n'augmente dans l'urine que quelques jours seulement après l'hémorrhagie, quand l'hémoglobine du sang extravasé a subi les transformations nécessaires.

C'est à elle aussi que l'on doit attribuer la couleur foncée des *urines hémaphéiques* de Gubler, très voisine de celle des urines bilieuses, urines émises dans certaines affections du foie, accompagnées d'un ictère très léger, ictère hémaphéique, limité ordinairement à la face et aux sclérotiques, sans les démangeaisons vives et la décoloration des fèces que l'on observe dans l'ictère vrai.

L'urine de cheval et celle de chien ne renfermeraient pas d'urobiline.

b. *Procédés de recherche.*

Le caractère le plus net de l'urobiline consiste dans ses propriétés optiques. La réaction attribuée par Heller à l'urophéine, dans laquelle l'urine additionnée de la moitié d'acide sulfurique concentré prend par l'agitation une couleur grenat brun plus ou moins foncé, appartient certainement à l'urobiline, mais ne peut être utilisée pour caractériser nettement cette substance. Il en est de même de la fluorescence que présentent beaucoup d'urines. Il n'y a de réellement démonstratif que les bandes d'absorption du spectre de l'urobiline qui sont cependant très analogues à celles de la cholételine.

(1) Hoppe-Seyler, *Ber. d. Chem. Gesellsch.*, 1884, t. VII, p. 1065.

(2) Disqué, *Zeitschr. f. Physiol. Chemie*, t. II, p. 264.

1° On a vu que beaucoup d'urines peuvent ne présenter les bandes de l'urobiline qu'après un abandon plus ou moins long au contact de l'air. L'examen spectroscopique direct de l'urine n'est possible que si, à côté de l'urobiline, elle ne renferme pas trop d'autres pigments. Si l'urine est ictérique, on éliminera les pigments biliaires par le chlorure de calcium ammoniacal (p. 106). On verra plus loin comment on devra opérer dans le cas d'urines hématiques.

Des deux bandes d'absorption de l'urobiline, la bande γ seule, comprise entre b et F, est donnée par l'urine naturellement acide, mais elle est très difficile à percevoir. Pour en constater l'existence, dans le cas d'une urine normale, il faut examiner le liquide sous une épaisseur de 3 à 6 centimètres, tandis que, dans le cas d'urines fébriles ou de toute autre urine riche en urobiline, une épaisseur de 1 centimètre est déjà trop considérable. Si l'urine est alcaline, on doit évidemment l'aciduler au préalable avant de rechercher la bande γ; mais, même dans le cas d'une urine acide, l'addition d'un acide minéral favorise dans beaucoup de cas l'apparition de cette bande.

Le résultat de cette première recherche est-il négatif, on déterminera l'apparition de la bande δ (également entre b et F) beaucoup plus facile à trouver. Pour cela on alcalinise fortement l'urine par l'ammoniaque, on ajoute au liquide filtré du chlorure de zinc tout le temps que le précipité se redissout, et l'on examine le mélange au spectroscope, sous une épaisseur convenable.

2° Si le procédé précédent ne donne aucun résultat, on extrait l'urobiline de l'urine en l'épuisant par l'éther ou le chloroforme après acidulation du liquide par un acide minéral; puis on examine au spectroscope la solution obtenue par évaporation concentrée ou non, ou encore la solution obtenue en redissolvant dans l'alcool le résidu de l'évaporation de l'extrait éthéré ou chloroformique. Souvent une agitation modérée de l'urine avec la moitié de son volume d'éther, exempt d'alcool, enlève au liquide l'urobiline qu'il contient (Salkowski), à condition qu'il ne renferme ni alcool, ni acide acétique.

3° Enfin, si l'on n'obtient pas plus de résultat par cette nouvelle méthode que par la précédente, on précipite l'urobiline par l'un des deux procédés qui suivent :

a. **Procédé Jaffé.**

Dans ce procédé, applicable aux urines pauvres en pigments, on précipite l'urine par le sous-acétate de plomb et l'on fait bouillir avec de l'alcool le précipité préalablement lavé et desséché. On le décompose ensuite par une solution alcoolique d'acide sulfurique. La solution sursaturée par l'ammoniaque, étendue de son volume d'eau est additionnée de chlorure de zinc: il se produit un abondant précipité rouge brun au milieu d'un liquide encore fortement coloré, mais ne contenant plus guère que les pigments étrangers autre que l'urobiline. Le précipité, lavé à l'eau froide, puis à l'eau chaude jusqu'à disparition de toute trace de chlorure, est desséché et décomposé de nouveau par l'alcool sulfurique; la solution est étendue de beaucoup d'eau et finalement épuisée par le chloroforme. Les solutions chloroformiques réunies, concentrées par distillation, donnent un résidu liquide qu'on examine au spectroscope.

b. Procédé Méhu (1).

L'urine additionnée de 1 à 2 grammes d'acide sulfurique par litre, de façon à présenter une réaction acide, est complètement saturée de sulfate d'ammonium à la température ordinaire. Il se forme un précipité floconneux brun qu'on isole par le filtre du liquide presque complètement décoloré, et qu'on lave avec une solution aqueuse, saturée à froid de sulfate d'ammoniaque acidulée par l'acide sulfurique. On exprime bien le filtre et on le fait digérer à une douce chaleur avec de l'alcool absolu additionné de quelques gouttes d'ammoniaque. La solution alcoolique, concentrée par évaporation, est alors soumise à l'examen spectroscopique.

Tous les procédés qui consistent à épuiser l'urine ou les précipités plombiques ou zinciques par des dissolvants neutres, au contact d'un acide minéral, en vue d'extraire l'urobiline, dans le cas d'urines ictériques par exemple, supposent l'élimination préalable des dérivés biliaires par l'ammoniaque et le chlorure de calcium (p. 106). En outre, si l'urine est hématique et ne renferme que de l'hémoglobine, on précipite l'urobiline seule par le sous-acétate de plomb. Si elle contient de la méthémoglobine, on élimine ce principe en traitant l'urine, neutralisée par le carbonate de sodium, par de l'acétate de plomb neutre, et l'on précipite ensuite le restant de l'urobiline, dans le liquide filtré, par de l'acétate basique.

Les résultats de l'étude spectroscopique des extraits d'urobiline sont confirmés par les changements de coloration que subissent leurs solutions, suivant que le milieu est acide (rouge grenat) ou alcalin (jaune); par le passage de la teinte jaune de la solution ammoniacale à la teinte rouge sous l'influence du chlorure de zinc; par la fluorescence verdâtre des solutions neutres et surtout de la solution ammoniacale et zincique; par la disparition de cette fluorescence après addition d'acide et sa réapparition par addition d'un alcali; enfin par la précipitation de l'urobiline en solution par les sels métalliques, acétate de plomb, sels d'argent et de mercure, sulfate de cuivre, chlorure de zinc, chlorure ferrique, acétate d'urane, sous forme de flocons bruns ou rouge brun.

β. Urochrome.

D'après Thudichum, l'urine normale ne contient qu'une matière colorante jaune unique, l'*urochrome* dont les produits de décomposition constituent à l'état de mélange la résine de Prout, l'oxyde d'omichuryle de Scharling, l'urrhodine de Heller, l'indigrubine de Schunk, la matière colorante de Schérer, l'urohématine de Harley et la matière colorante de Marcet. L'urine normale ne contiendrait pas d'indican (?). Cet urochrome s'oxyde au contact de l'air, et de jaune qu'il était, se transforme en un corps rouge, analogue à l'uroérythine, auquel certaines urines pathologiques doivent leur coloration. L'ébullition avec les acides le dédouble en uromélanine et uropittine brun noir et en acide omicholique rouge anologue à l'oxyde d'omichuryle de Scharling.

Les recherches de Maly (2) ont démontré que l'urochrome, extrait en présence

(1) Méhu, *Journ. de pharm. et de chim.*, 1878, t. XXVIII.
(2) Maly, *Ann. d. Chem. und Pharm.*, t. CLXIII, p. 90.

de l'acide sulfurique de sa combinaison plombique, est jaune rougeâtre et présente le spectre d'absorption de l'hydro-urobiline. Nous renvoyons pour l'étude de cet urochrome, qui ne paraît pas être un produit bien défini, au mémoire original de Thudichum (1).

γ. **Indican** (Acide indoxysulfurique, $C^8H^6Az.O.SO^3.HO$).

On a extrait depuis longtemps de l'urine normale des matières colorantes bleues et rouges qui ont reçu les noms de cyanurine (Braconnot), uroglaucine (Heller), urocyanine (Martin), bleu urinaire (Virchow), purpurine (Bird), urorhodine (Heller), et dont la partie bleue a été identifiée avec le bleu d'indigo par Hassall et Sicherer. Ces deux matières colorantes bleu et rouge ne préexistent pas dans l'urine et proviennent de la décomposition d'une substance nommée *Uroxanthine* par Heller, et que, sous le nom d'*Indican*, Schunk a cru être identique avec l'indigo végétal, et qu'il a d'ailleurs réussi à extraire de l'urine. Plus tard Hoppe-Seyler a montré la non-identité de l'indican végétal et animal; Jaffé a trouvé dans l'indol la source de l'indican urinaire; enfin Baumann (2) a démontré que cet indican est un dérivé sulfoconjugué analogue aux phénolsulfates, provenant de l'oxydation de l'indol et de ses dérivés, et en a établi les propriétés avec Brieger et Tiemann (3).

a. *Conditions d'apparition dans l'urine.*

Des nombreuses recherches de Heller, de Hoppe-Seyler, de Jaffé, etc., il résulte d'une façon indubitable que l'indican est un élément constant de l'urine normale, et qu'on le trouve chez les carnivores, mais surtout et en très grande quantité chez les herbivores.

Dans l'alimentation mixte, l'urine humaine contient, en 24 heures, de 5 à 20 milligrammes de bleu d'indigo.

Pendant l'abstinence, dans le cas d'une alimentation végétale prédominante, et après l'ingestion de gélatine, l'excrétion de l'indican est très minime; elle devient très considérable dans l'alimentation riche en albumine.

A l'état pathologique, l'occlusion de l'intestin grêle et la péritonite diffuse déterminent une augmentation considérable dans la proportion d'indican éliminé par les urines, laquelle peut, en une journée, monter à $0^{gr},05$ et 0,10 et même à $0^{gr},15$ (Jaffé). Ce fait, rapproché de l'augmentation encore très forte de l'indican urinaire à la suite d'ingestions sous-cutanées d'indol (Jaffé) (4), s'explique facilement par la présence constante de l'indol dans la troisième phase de la digestion pancréatique des matières albuminoïdes dans l'intestin.

La majeure partie de l'indol est normalement éliminée par les fèces auxquels il communique son odeur; une autre partie est résorbée et éliminée avec l'urine sous forme d'indican; et si, pour une raison quelconque, l'excrétion des matières fécales est empêchée, la résorption de l'indol devenant très abon-

(1) *Brit. Med. Journal*, nov. 1864, p. 5; et *Schmidt's Jahrbücher*, 1865, t. CXXV, p. 154.

(2) Baumann, *Pflüger's Archiv.*, 1876, t. XIII, p. 304.

(3) Baumann et Brieger, *Zeitschr. f. Physiol. Chem*, 1879, t. III, p. 254. — Baumann et Brieger, *Ber. d. Chem. Gesellsch.*, 1879, t. XII, p. 1098 et 1192; 1880, t. XIII, p. 408.

(4) Jaffé, *Centralblatt f. d. Med. Wissenschaft*, 1872, n° 1.

dante aura pour conséquence une augmentation correspondante de l'indican. On constate cependant que ce n'est qu'exceptionnellement que ce dérivé augmente dans l'urine à la suite d'obstruction du gros intestin, et ou d'un obstacle siégeant dans l'intestin grêle.

L'indican est excrété par l'urine en quantité souvent considérable, dans le choléra, dans certaines diarrhées continues, dans le typhus diarrhéique, etc., mais non dans les affections du gros intestin avec diarrhée secondaire, telles que la dysenterie. Enfin, une augmentation du même genre se produit dans le cancer du foie et de l'estomac, dans certaines affections du système nerveux, particulièrement de la moelle épinière, dans le coït, et, d'après Grassic, pendant les premiers jours à la suite de fractures, d'amputations ou de résections, et, d'après Sénator, dans l'anémie pernicieuse.

Le catarrhe gastro-duodénal avec ictère et l'élément fièvre paraissent sans influence sur la quantité d'indican.

L'accroissement de l'indican est toujours accompagné d'une augmentation correspondante des dérivés phénoliques. Mais l'inverse n'est pas exact, car à côté de beaucoup de phénol, on ne trouve pas forcément un excès d'indican.

L'ingestion de la créosote et de l'essence d'amandes amères, même à petite dose, augmenterait notablement la proportion de l'indican dans l'urine (Kletzinsky).

L'indican se décompose facilement à la suite d' un repos prolongé de l'urine ou pendant son évaporation. Les urines alcalines en voie de fermentation deviennent souvent bleues quand on les agite au contact de l'air, et par le repos se recouvrent d'une mince pellicule bleue, miroitante où l'on peut quelquefois trouver des cristaux microscopiques aiguillés d'indigo (Hoppe). L'addition d'acide chlorhydrique peut déterminer la séparation d'un dépôt d'acide urique cristallin qui entraîne le bleu d'indigo; aussi rencontre-t-on quelquefois les produits de dédoublement de l'indican dans les sédiments et les calculs urinaires (Heller). Bloxam a trouvé un calcul rénal riche en indigo.

b. *Procédés de recherche.*

1° *Action des hypochlorites.* — Le meilleur procédé de recherche de la présence de l'indican dans l'urine est basé sur l'oxydation que subit ce composé en solution fortement acide, sous l'influence des hypochlorites (Jaffé) (1). On dissout, au moyen de chloroforme, le bleu d'indigo produit par agitation (Stokwis).

On mélange dans un verre des volumes égaux d'urine et d'acide chlorhydrique, on ajoute au mélange quelques centimètres cubes de chloroforme, puis on verse dans le liquide, goutte à goutte, soit une solution concentrée d'hypochlorite de chaux, soit une solution étendue de liqueur de Labarraque, en remuant fortement après chaque addition du réactif. Le chloroforme se colore peu à peu en bleu. Un très léger excès d'hypochlorite n'a pas d'influence sensible sur la réaction, mais un excès trop considérable transforme l'indigo en isatine jaunâtre, et empêche la coloration bleue d'apparaître. La production d'indigo déjà suffisamment démontrée par la couleur bleue du chloroforme est confirmée par l'examen spectroscopique

(1) Jaffé, *Pflüger's Archiv.*, t. III, p. 448.

de la solution qui possède les deux bandes d'absorption caractéristiques, l'une foncée dans le rouge, entre *a* et B25C ou *a* et C10D (solution concentrée ou couche épaisse), l'autre très faible dans le vert entre D50E et D77E (Vierordt) (1).

Si l'urine dans laquelle on recherche l'indican renferme de l'albumine, on doit l'en débarrasser au préalable. Si elle est très foncée, on précipite les pigments étrangers par l'acétate de plomb.

Dans cette réaction, on peut remplacer le chlorure de chaux par le permanganate de potasse et le chloroforme par le sulfure de carbone.

2° *Action des acides minéraux.*— On utilise aussi, pour caractériser l'indican, sa décomposition à froid par l'acide sulfurique concentré (Heller) ou à une douce chaleur par l'acide chlorhydrique (Stokwis). On extrait encore l'indigo bleu soit par le chloroforme, soit par la benzine lourde; mais, dans cette nouvelle méthode, il se forme toujours, à côté de l'indigo, de l'urrhodine rouge, en laquelle se transforme d'ailleurs peu à peu le bleu d'indigo laissé au contact du liquide acide.

On a vu précédemment que les sédiments urinaires pouvaient contenir les produits de dédoublement de l'indican. Pour en extraire l'indigotine, on les recueille sur un filtre, on les lave d'abord à l'acide chlorhydrique étendu, puis à l'eau distillée; on dessèche le filtre et l'on épuise par le chloroforme qui dissout la matière colorante bleue; on obtient facilement l'urrhodine en épuisant les sédiments par l'alcool froid ou par l'éther.

c. Dosage de l'indigo.

On peut doser approximativement l'indigo qui résulte de l'oxydation de l'indican: à cet effet on précipite un volume déterminé d'urine par un mélange de chlorure de calcium et d'eau de chaux; on évapore le liquide filtré en maintenant la réaction alcaline et l'on en fait un extrait alcoolique. Le résidu de l'extrait alcoolique, distillé, est redissout dans l'eau et traité par l'acide chlorhydrique fumant, auquel on a ajouté au préalable quelques gouttes d'une solution concentrée de chlorure de chaux. Après 12 heures de repos, on recueille le précipité d'indigo bleu sur un filtre taré, on le lave à l'eau chaude, puis à l'ammoniaque étendue et enfin à l'eau pure ; on dessèche et l'on pèse.

Remarque. — Les expériences de Jaffé ont établi nettement que le point de départ de l'indican urinaire était l'indol de l'intestin. D'un autre côté, on attribue l'origine des phénolsulfates de l'urine, pour une part au moins, au phénol qui se produit dans la digestion pancréatique des matières albuminoïdes. En se basant sur ces faits, on a pensé que l'homologue supérieur de l'indol, le skatol, qui existe à côté de lui dans l'intestin pourrait également donner naissance à un dérivé sulfoconjugué dont la formule serait $C^9H^8AzO.SO^2.OH$. Or, il résulte des expériences de Jaffé et surtout de celles de Brieger (2), que ce composé existe dans les urines à côté de l'indican, et que dans la réaction des hypochlorites en solution chlorhydrique, il donne naissance à une matière colorante violette,

(1) Vierordt, *Zeitschr. f. Biologie*, 1874, t. X, p. 31; 1875, t. XI, p. 187.

(2) Brieger, *Ber. d. Chem. Gesellsch.*, 1877, t. X, p. 1031; 1879, t. XII, p. 1985; 1880, t. XIII, p. 2238; et *Zeitschr. f. Physiol. Chem.*, t. IV, p. 416.

morphe, insoluble dans l'eau et dans l'éther, mais soluble dans l'alcool absolu et dans l'acide sulfurique avec coloration rouge.

C'est à la production de ce dérivé du skatol que Jaffé attribue la coloration rouge ou violet rouge que prennent certaines urines dans la réaction de l'indican sans faire usage du chloroforme.

δ. Uroérythrine.

Simon a donné le nom d'uroérythrine à la matière colorante entraînée par les sédiments rouge-brique d'acide urique; cette substance est aussi peu connue que l'urochrome de Thudichun, la coloration qu'elle communique aux sédiments augmente d'intensité au contact de l'air. Elle coexisterait d'ailleurs dans ces dépôts à côté d'autres pigments tels que l'urobiline, l'indigo bleu et l'urrhodine.

ε. Uroroséine.

Cette matière colorante, découverte par MM. Nencki et Sieber, est décelée par la coloration rose que prennent les urines, deux à trois minutes après l'addition d'acide chlorhydrique. Elle n'a été trouvée qu'à l'état pathologique dans les affections les plus diverses : diabète sucré, chlorose, ostéomalacie, néphrite, fièvre typhoïde, pérityphlite, etc.; on la rencontre dans 10 p. 100 environ des urines.

Pour l'isoler, on traite 50-100^{cc} d'urine par 5-10^{cc} d'acide sulfurique étendu au quart et l'on agite avec quelques centimètres cubes d'alcool amylique qui dissout l'uroroséine en se colorant en rouge intense.

Cette solution concentrée ne laisse passer que les radiations rouges et orangées. Au spectroscope, elle donne une bande d'absorption entre D et E. Traitée par les alcalis ou leurs carbonates, elle perd sa coloration que lui restituent les acides. La solution acide est également décolorée par l'addition de poudre de zinc; au contact de l'air, le liquide reprend sa teinte rouge.

ζ. Urines noires.

On a vu qu'à la suite de l'absorption du phénol, les urines pouvaient prendre une coloration foncée, brune, verte et même noire. Il en est de même des urines de certains malades atteints de tumeurs mélaniques. On a également signalé des urines colorées en noir à la suite de l'inhalation d'hydrogène arsénié (Vogel).

4. ACIDES BILIAIRES.

a. *Conditions d'apparition dans l'urine.*

Vogel le premier a prétendu que les acides biliaires de la bile humaine, acides glycocholique et taurocholique, existaient dans l'urine normale à l'état de traces et ne pouvaient être décelés qu'en opérant sur un volume considérable de liquide (0^{gr},7 à 0,8 pour 100 litres, Dragendorff, Hœhne).

(1) Nencki et Sieber, *J. Prakt. Chem.*, t. XXVI, p. 233; et *Bull. de la Soc. chim.*, t. XXXIX, p. 618.

Plus récemment Hoppe-Seyler et Kültz ont reconnu que le procédé d'extraction de Dragendorff donnait des résultats erronés et que l'urine normale ne renfermait pas d'acides biliaires. Ces derniers cependant sont excrétés en quantité appréciable, quoique faible, dans l'urine ictérique (ictère hépatogène), lors de l'empoisonnement par le phosphore ou dans des cas de pneumonie, avec propagation inflammatoire du côté du foie (Pettenkofer, Lehmann).

b. *Procédés de recherche.*

Réaction de Pettenkofer. — Si l'on additionne la solution aqueuse d'un sel biliaire quelconque avec quelques gouttes d'une solution étendue de sucre, puis avec de l'acide sulfurique concentré et exempt d'acide sulfureux, jusqu'à ce que le mélange atteigne la température de 50-70°, le liquide se colore en rouge cerise pâle, puis en rouge carmin foncé et finalement en beau violet pourpre (Pettenkofer). On peut éviter l'addition d'un excès d'acide en chauffant le mélange au bain-marie jusqu'à apparition de la teinte violette sur les bords, puis retirant la capsule et l'abandonnant à elle-même; la réaction augmente alors d'intensité et permet de découvrir jusqu'à 1/400 à 1/600e de milligramme d'acide biliaire (Neubauer). La réaction est beaucoup plus vive à la température du bain-marie qu'en chauffant à feu nu.

Une parcelle de sucre suffit pour faire apparaître la coloration violette qui disparaîtrait noyée dans le brun ou le noir produit par un excès de sucre sous l'influence de l'acide sulfurique.

Le liquide violet fortement étendu d'alcool jusqu'à ce que le violet du spectre soit seul absorbé, présente deux bandes d'absorption au spectroscope : l'une, en avant et près de F; l'autre, entre D et E, plus rapprochée de E. Une solution concentrée ne donne que la deuxième bande (Schenk) (1).

L'acide oléique, l'alcool amylique et l'albumine donnent une coloration voisine du violet par la réaction de Pettenkofer, mais le liquide coloré ne présente aucune bande d'absorption.

1° *Procédé Pettenkofer.* — On plonge un papier à filtre blanc dans l'urine additionnée d'un peu de saccharose et on le laisse sécher. On dépose sur ce papier une goutte d'acide sulfurique qui, en diffusant, produit après 1/4 de minute déjà, une belle coloration violette, appréciable surtout par transparence: la réaction réussit avec 0gr,3 d'acide biliaire par litre d'urine. L'urine normale ne donne aucune coloration, sauf dans le cas où elle renferme de l'indican qui produit alors une coloration rouge vin ou violet rouge, à la condition qu'elle soit complètement exempte d'albumine.

Le papier employé ne doit pas être encollé, sinon les matières résineuses de l'encollage se coloreraient en violet sous l'influence seule de l'acide sulfurique (Strassburg) (2).

2° *Procédé Hoppe-Seyler.* — Il est toujours préférable, pour acquérir plus de certitude dans ces recherches, d'extraire d'abord les acides biliaires de l'urine. On a imaginé à cet effet un grand nombre de procédés, mais nous n'indiquerons

(1) Schenk, *Jahresber. f. Thierchemie*, t. II, p. 232.
(2) Strassburg, *Pflüger's Archiv.*, 1871, t. IV, p. 461.

que celui de Hoppe-Seyler (1) légèrement modifié, très facilement applicable à cause de sa plus grande simplicité.

On précipite directement l'urine par le sous-acétate de plomb ammoniacal; le précipité mixte obtenu, lavé à l'eau et desséché, est épuisé par l'alcool fort qui dissout les sels biliaires à base de plomb; la solution alcoolique additionnée de quelques gouttes de carbonate de soude est évaporée à siccité et le résidu repris par l'eau donne une solution qu'on soumet à la réaction de Pettenkofer. Si la coloration violette n'est pas nette, c'est-à-dire plus ou moins masquée par des teintes rouge ou jaune brunâtre, provenant de quelque matière résineuse de l'urine, il faut recommencer l'opération, en précipitant une seconde fois l'extrait aqueux de sel biliaire sodique par l'acétate de plomb. On peut ainsi retrouver dans 500 centimètres cubes d'urine jusqu'à $0^{gr},01$ et même 0,005 d'acide biliaire.

On confirmera d'ailleurs ce premier résultat par l'examen spectroscopique de la solution alcoolique de la matière violette obtenue.

C. *Dosage approximatif des acides biliaires.*

Le dosage de ces acides se fait d'après le procédé d'extraction qui vient d'être décrit. Le produit de la décomposition des sels biliaires plombiques par le carbonate de sodium est évaporé à siccité, et le résidu épuisé par l'alcool absolu bouillant qui dissout les glyco- et taurocholate de soude. La solution est concentrée à un certain volume v, puis examinée à l'appareil de polarisation sous une épaisseur de $0^{m},20$.

La quantité d'acide biliaire pour 100 parties de solution est donnée par la formule :

$$p = \alpha \times \frac{52,5}{31,4} \times 0,9525,$$

et la quantité totale contenue dans l'extrait alcoolique par la suivante :

$$x = \frac{v}{100} \times \frac{\alpha \times 52,5}{31,4} \times 0,9525,$$

α étant la déviation lue sur l'échelle du saccharimètre donnant le degré, lequel correspond à 0,9525 de glucose p. 100, sous une épaisseur de 20 centimètres,

52,5, le pouvoir rotatoire de la glucose (Landolt),

31,4, celui du cholalate de soude en solution alcoolique.

Les résultats sont donc exprimés en acide cholalique et non en acides biliaires vrais. Mais l'erreur commise est bien faible, si l'on tient compte de la petite différence qui existe entre les pouvoirs rotatoires des deux acides.

5. ACIDE LACTIQUE ($C^3H^6O^3$).

L'acide lactique que l'on peut rencontrer dans l'urine est l'acide sarcolactique. Il apparaît dans ce produit d'excrétion lors de l'empoisonnement aigu par le

(1) Hoppe-Seyler, *Analyse chimique*, traduction de M. Schlagdenhauffen, Paris, 1877, p. 394.

phosphore, dans l'atrophie jaune aiguë du foie (Schultzen, Riess), ainsi que dans la trichinose et l'ostéomalacie.

Son apparition, d'après Lehmann, serait concomittante de l'augmentation de l'oxalate de chaux et de l'acide urique.

Le procédé d'extraction de l'acide lactique de l'urine étant le même que celui dont on fait usage dans l'analyse du suc musculaire (p. 270), nous n'y reviendrons pas ici.

Nous ne mentionnerons enfin que pour mémoire les acides de la série grasse : formique, acétique, propionique, butyrique et valérique, qu'on a signalés dans quelques urines pathologiques, mais seulement en quantité très minime.

6. ACIDE ÉTHYLDIACÉTIQUE, ACÉTONE, ALCOOL.

a. *Conditions d'apparition dans l'urine.*

La présence dans l'urine de l'éther éthyldiacétique $CH^3.CO.CH^2.CO.O.C^2H^5$ n'est encore rien moins que démontrée. Mais l'apparition de ses produits de décomposition, acétone et alcool dans l'urine de certains diabétiques, ont conduit Rupstein (1) à émettre l'hypothèse de l'existence primitive de cet éther dans les urines. Il est vrai que cette théorie a été combattue par Kussmaul (2).

L'acétone extraite pour la première fois par Petters et Kaulich de l'urine de diabétiques, a été trouvée aussi dans d'autres maladies (acétonhémie). On a même prétendu qu'elle existait dans toute urine normale, à la dose de 0gr,01 en 24 heures. Cette proportion augmente dans les affections fébriles, notamment dans les maladies infectieuses, et monte à plusieurs décigrammes, par exemple dans la rougeole, la scarlatine et la pneumonie (v. Jacksch).

Dans la période ultime du diabète, dans le coma diabétique, l'haleine des malades présente souvent une odeur chloroformique que ne possède pas l'urine fraîche, mais qui se développe ensuite dans ce liquide en quelques heures (Rupstein). L'urine renferme alors de l'acétone qui s'est développée après l'émission. A l'état frais, elle donne avec le chlorure ferrique une coloration brun rouge (Gerhardt) (3) qui ne se produit plus après ébullition de l'urine ou lorsqu'elle a été abandonnée longtemps à elle-même; l'acide sulfurique pur la colore en rose clair, puis en jaune orange (Gerhardt).

L'éther enlève à l'urine fraîche, soit directement après agitation, soit après acidulation forte au moyen de l'acide sulfurique, une substance que le chlorure ferrique colore en brun rouge comme l'urine elle-même. Mais le liquide éthéré distillé et le résidu de la distillation présentent aussi la même réaction que ne possède plus la solution éthérée après un repos de plusieurs jours (v. Jacksch (4), Tollens (5).

D'après la théorie de Rupstein, relative à l'origine de l'acétone des urines

(1) Rupstein, *Centralblatt f. d. Med. Wissensch.*, 1874, n° 55.
(2) Kussmaul, *Archiv. f. Klinisch. Medic.*, 1874, t. XIV, p. 30.
(3) Gerhardt, *Wiener Med. Presse*, 1865, p 28.
(4) Von Jacksch, *Prager Med. Worhenschrift*, 1880, t. XXI, p. 204.
(5) Tollens, *Archiv. f. Klin. Medic.*, 1881, t. XXVIII, p. 193.

diabétiques, ce composé proviendrait, ainsi que l'alcool qu'on a pu extraire en petite quantité par la distillation fractionnée de ces urines, de l'éther éthyldiacétique de Geuther, lequel, sous l'influence des acides forts et des alcalis, se décompose, en effet, comme le montre la formule ci-dessous, en alcool, acétone et acide carbonique :

$$CH^3.CO.CH^2.CO.O.C^2H^5 + H^2O = CH^3.CO.CH^3 + C^2H^5.OH + CO^2.$$

Et l'on a attribué les accidents du coma diabétique (1) à la présence dans l'économie de quantités trop considérables soit de cet éther, soit de son dérivé l'acétone. Cette question a soulevé de sérieuses objections : la coloration brune, par le chlorure ferrique, de l'urine diabétique dans laquelle l'acétone prend naissance est bien différente de la coloration rouge violet que donne l'éther éthyldiacétique. Cette coloration se produit aussi avec des urines de diabète simple au début et même avec quelques urines non diabétiques (Garnier), ainsi que pendant la période éruptive des maladies exanthémateuses (von Jacksch) (2). On peut extraire l'acétone d'urines diabétiques en dehors de la période finale comateuse de l'affection. Enfin, Cornillon et Mallat (3) ont démontré que les réactions du sel ferrique et de l'acide sulfurique ne se produisent que dans les cas de diabète accompagné d'amaigrissement prononcé et non chez les diabétiques gras, et qu'elles ne sont dues à aucun des composés suivants : acétone, éther éthyldiacétique, acide acétique, alcool, peptones, etc.

b. *Procédés de recherche de l'acétone.*

1° *Emploi de l'iode.* — La méthode des distillations fractionnées, appliquée à 50 litres au moins d'urine, permettra seule d'obtenir une quantité suffisante du produit pour le caractériser. Jacksch distille simplement un litre d'urine après forte acidulation par l'acide tartrique, de façon à obtenir environ 100 à 150^{cc} de liquide qu'il traite ensuite par la potasse et l'iode pour obtenir la réaction de l'iodoforme. Il est évident que ce procédé n'est pas très exact, puisque l'alcool qui peut et doit même se trouver dans l'urine, ainsi que d'autres produits, donnent indifféremment la réaction de Lieben. Suivant Jacksch, l'alcool ne fournit dans ces conditions de l'iodoforme qu'au bout de quelques minutes, tandis que l'acétone en donne rapidement.

2° *Emploi de la fuchsine.* — A la réaction de l'iodoforme, il est préférable de substituer la suivante due à M. Chautard : l'acétone, comme les aldéhydes, fait virer au violet une solution aqueuse de fuchsine (0,25 pour 500 d'eau) décolorée par l'acide sulfureux sans excès. On ajoute à 20 centimètres cubes d'urine quelques gouttes, 1^{cc} au plus, de réactif sulforosanilique; la coloration violette se produit infailliblement s'il y a de l'acétone. Mais la teinte violette, encore sensible avec 1/10.000^e d'acétone dans un liquide incolore, peut être masquée par la teinte jaune de l'urine; en ce cas, on distille 200^{cc} d'urine très lentement et l'on soumet à la réaction les quinze premiers centimètres cubes du liquide qui passe (4).

(1) Hagen, *Coma diabétique*, thèse inaugurale, 1884.
(2) Von Jacksch, *Maly's Jahresberischt*, t. II, p. 261.
(3) Cornillon et Mallat, *Journ. de pharm. et de chim.*, 1883, t. VIII, p. 495.
(4) Chautard, *Bull. de la Soc. chim.*, 1886, t. XLV, p. 83.

Ce procédé a l'avantage d'être très sensible et de ne rien donner avec l'alcool.

7. CORPS GRAS.

a. *Conditions d'apparition dans l'urine.*

Les corps gras n'apparaissent que très rarement dans les urines. Ils peuvent s'y trouver incorporés dans des cellules lymphatiques, épithéliales, etc., ou en liberté.

L'urine peut, dans ce dernier cas, présenter l'aspect du lait (urines chyleuses, lipurie, galacturie), et renfermer jusqu'à 13gr,9 de graisses en suspension à l'état vésiculaire (Beale); par le repos, il se forme alors à la surface une couche crémeuse, blanche, formée par la réunion des globules gras. Dans d'autres circonstances, l'opacité est due, non plus à de la graisse, mais à des cellules de pus (Lehmann) qu'on distingue d'ailleurs facilement des vésicules graisseuses, d'abord par leur aspect microscopique, puis par leur insolubilité dans l'éther qui ne détermine pas l'éclaircissement du liquide.

La galacturie est plus spéciale aux régions tropicales.

b. *Procédés de recherche.*

1° *Examen microscopique.* — La graisse libre se présente sous forme de disques aplatis, à pouvoir réfringent considérable, homogènes, à contours irréguliers et obscurs, pouvant se fusionner sous le microscope : ce que ne font pas les vésicules graisseuses qui sont d'ailleurs complètement sphériques. L'acide osmique au 1/100e colore la graisse en noir.

2° *Recherche chimique.* — L'urine est évaporée à sec au bain-marie et le résidu épuisé par l'éther. La solution éthérée, évaporée, laisse un extrait insoluble dans l'eau, qui produit une tache permanente et translucide sur le papier, et dégage l'odeur d'acroléine par calcination avec du bisulfate de potassium.

On peut encore extraire et doser la graisse dans les urines chyleuses à l'aide du procédé Adam, en ayant soin que le mélange d'urine, d'éther, et d'alcool soit légèrement alcalin, ce à quoi l'on arrivera toujours par l'addition de quelques gouttes d'ammoniaque (voir Analyse du lait, p. 206).

Outre les corps gras, l'extrait éthéré peut contenir, dans la chylurie, de la cholestérine et de la lécithine ou ses produits de décomposition, neurine et acide phosphoglycérique (Eggel, Brieger) (1).

A côté de quantités variables de graisses, les urines chyleuses peuvent contenir de l'albumine, capable de les maintenir en émulsion, et souvent aussi de la fibrine qui peut s'agglomérer en caillots, ou rester dans le dépôt sous forme de fibres dissociées.

8. CHOLESTÉRINE.

a. *Conditions d'apparition dans l'urine.*

La cholestérine accompagne toujours les graisses dans les cas de chylurie et dans les affections où l'urine contient une proportion relativement forte de

(1) Brieger, *Zeitschr. f. Physiol. Chem.*, t. IV, p. 407.

corps gras (dégénérescence graisseuse des reins). L'urine d'un épileptique, traité depuis longtemps par le bromure de potassium à hautes doses, renfermait jusqu'à 0,25 p. 100 de cholestérine.

b. *Procédés de recherche.*

L'extrait éthéré qui sert à la recherche des corps gras, examiné au microscope, révèle souvent la présence de tables rhomboïdales de cholestérine. En le reprenant par l'alcool additionné d'un peu d'hydrate de potasse solide, chauffant au bain-marie, puis évaporant la solution, épuisant le résidu par l'eau qui dissout les savons et la glycérine provenant des corps gras et finalement faisant cristalliser dans l'alcool la partie insoluble dans l'eau, on obtient de la cholestérine cristallisée. Celle-ci est examinée au microscope.

Traitée par l'acide sulfurique concentré, elle donne un liquide rouge foncé qui cède sa coloration au chloroforme. La solution chloroformique, versée dans une capsule, se colore rapidement en bleu, en vert, puis en jaune, par suite de l'absorption d'une certaine quantité d'eau (Salkowski).

9. ACIDES GRAS.

V. Jaeksch (1) a trouvé, dans l'urine normale, des traces d'acides gras, au plus 8 milligrammes dans les vingt-quatre heures, parmi lesquels les acides acétique et formique. La proportion peut s'élever à 6 centigrammes dans certaines affections pathologiques (lipacidurie fébrile). Dans la lipacidurie hépatique, on trouve chaque jour 6 décigrammes et même au delà, d'acides gras parmi lesquels, à côté de l'acide acétique, des acides homologues supérieurs et peut-être de l'acide valérianique.

La recherche de ces acides s'effectue comme il est dit p. 178.

10. LEUCINE, TYROSINE, CYSTINE.

La leucine et la tyrosine se trouvent dans l'urine à la suite de l'atrophie aiguë jaune du foie, lors de l'empoisonnement aigu par le phosphore, dans le typhus grave, dans les cas de petite vérole interne et dans l'anémie pernicieuse.

La leucine y existe toujours à l'état dissout. La tyrosine peut s'y trouver soit en solution, soit à l'état solide, dans les sédiments urinaires.

La cystine se trouve constamment dans l'urine de certains individus, et s'en sépare sous forme de sédiment ou de concrétions vésicales.

La présence de ces trois composés dans l'urine n'offrant qu'un intérêt relatif, nous ne nous occuperons de leur caractérisation qu'au chapitre relatif aux sédiments urinaires.

Il en sera de même d'ailleurs de la xanthine qui fait partie de l'urine normale.

11. HYDROGÈNE SULFURÉ.

On a signalé la présence de l'acide sulfhydrique dans des cas très rares.

(1) Von Jacksch, *Zeitschr. f. Physiol. Chem.*, 1886, p. 536.

Neubauer l'a trouvé dans l'urine d'un individu atteint de paraplégie consécutive à la goutte.

Il se reconnaît facilement à son odeur et à son action sur les sels de plomb qu'il colore en noir.

12. KYESTÉINE.

L'urine des femmes enceintes, abandonnée au repos, se recouvre d'une pellicule blanchâtre composée de phosphate ammoniaco-magnésien et de mucédinées. Cette pellicule, à laquelle Nauche a donné le nom de kyestéine et qu'il croyait caractéristique de la grossesse, s'observe dans beaucoup d'urines.

13. ACIDE HIPPURIQUE, $C^9H^9AzO^3$, ET ACIDE BENZOÏQUE, $C^7H^6O^2$

a. *Conditions d'apparition dans l'urine.*

L'acide hippurique est un des éléments constants de l'urine de l'homme sain ou malade, et s'y trouve dans la proportion de 0,1 à 1 gramme dans les 24 heures. Cette quantité est d'ailleurs sous la dépendance directe de l'alimentation, et augmente dans le régime végétal, surtout après l'usage de prunes, de mûres, ou de myrtilles. Il ne manque cependant pas à la suite d'une alimentation exclusivement animale, ce qui s'explique par la présence constante de l'acide benzoïque dans les produits de la digestion pancréatique des matières albuminoïdes. Il apparaît en grande quantité dans l'urine à la suite de l'ingestion d'acide benzoïque et de composés qui peuvent se transformer en acide benzoïque dans l'économie : toluol, acides cinnamique, phénylpropionique et quinique, essence d'amandes amères, éther benzoïque. L'influence de l'acide benzoïque sur l'excrétion urinaire de l'acide hippurique ou benzoylglycolique est certainement en relation directe avec la constitution moléculaire de ce dernier, en lequel il se transforme au contact du glycocolle qu'il doit rencontrer quelque part lors de son passage à travers l'économie.

La quantité d'acide hippurique de l'urine augmente aussi dans certaines maladies, principalement dans les fortes fièvres et dans le diabète.

Certaines substances aromatiques subissent, après leur ingestion, une transformation analogue à celle de l'acide benzoïque; l'acide nitrobenzoïque passe dans les urines sous la forme d'acide nitrohippurique, l'acide salicylique donne de l'acide salicylurique, l'acide phénylacétique de l'acide phénylacétylurique, etc.

L'acide benzoïque se trouve quelquefois dans l'urine normale à côté de l'acide hippurique. Sa proportion augmente après l'usage interne de ce composé ou de substances qui peuvent lui donner naissance; il existe dans l'urine putréfiée et provient du dédoublement de l'acide hippurique.

b. *Procédés de recherche.*

L'urine légèrement alcalinisée par la potasse est évaporée à consistance sirupeuse, refroidie, puis acidulée par l'acide chlorhydrique et abandonnée au repos

pendant vingt-quatre heures. On épuise la masse entière par l'éther acétique; a solution acétique, évaporée à siccité, laisse un résidu qu'on épuise par l'éther de pétrole. On obtient ainsi une solution (*a*) et une partie insoluble (*b*).

La solution pétroléique est évaporée. Le résidu est lavé à l'eau froide qui enlève de l'urée et du chlorure de sodium; il est ensuite desséché et pesé. Le produit obtenu constitue l'*acide benzoïque*.

La partie insoluble dans l'éther de pétrole (*b*) est mise en ébullition avec de la soude concentrée et épuisée par l'éther de pétrole, après acidulation par l'acide chlorhydrique. Le liquide éthéré évaporé donne un résidu qui, lavé à l'eau, desséché et pesé, représente l'acide benzoïque résultant du dédoublement de l'*acide hippurique*, et dont le poids, multiplié par 1,46, donne celui de ce dernier qui lui correspond (Jaarsweld et Stokwis (1).

14. ACIDE OXALIQUE, $C^2O^4H^2$.

a. *Conditions d'apparition dans l'urine.*

L'acide oxalique existe très fréquemment dans l'urine humaine normale sous forme d'oxalate de chaux, mais en très petite quantité (0,02 grammes en 24 heures, Fürbringer), maintenu en dissolution par le phosphate acide de sodium. Sa proportion augmente beaucoup (*oxalurie*) et il se dépose alors fréquemment sous forme de sédiments, dans un certain nombre de circonstances, après une alimentation comprenant de l'oseille, de la rhubarbe, des vins, des boissons riches en acide carbonique, ou l'usage de carbonates alcalins, de sels organiques alcalins, etc., mais surtout dans les cas où les combustions internes de l'organisme sont diminuées, comme dans les troubles de la respiration, dans l'emphysème pulmonaire, la gravelle urique et le diabète sucré. Il augmente également dans l'ictère, le rachitisme, après les attaques d'épilepsie et dans la convalescence de certaines maladies graves, notamment le typhus.

b. *Procédés de recherche.*

Nous ne nous occuperons ici que de l'oxalate de chaux dissout, celui des sédiments devant être étudié à part. On traite 400 à 600 centimètres cubes d'urine par le chlorure de calcium, on sature par l'ammoniaque, puis on ajoute de l'acide acétique, pour redissoudre les phosphates et carbonates terreux, jusqu'à faible réaction acide et l'on abandonne pendant 24 heures. Il se forme un précipité mixte d'oxalate de chaux et d'acide urique qu'on recueille sur un petit filtre et qu'on traite, après lavage à l'eau, par quelques gouttes d'acide chlorhydrique à chaud. L'acide urique reste insoluble, tandis que l'oxalate se dissout. La solution est étendue de 15 centimètres cubes d'eau dans un tube à essai, puis recouverte avec précaution d'un excès d'ammoniaque étendue ou d'acétate de sodium. Au bout de 24 heures, l'oxalate de chaux, insoluble dans l'ammoniaque et l'acide acétique étendu, s'est déposé au fond du tube sous forme de cristaux octaédriques que l'on pèse (Neubauer).

(1) Jaarsweld et Stokwis, *Journ. de pharm. et de chim.*, 1881, t. V, p. 42.

Si l'on calcine le précipité d'oxalate de chaux, on obtient un résidu de chaux caustique dont le poids multiplié par 1,6071 donne celui de l'acide oxalique correspondant.

15. LEUCOMAÏNES, ALCALOÏDES PHYSIOLOGIQUES.

a. *Conditions d'apparition dans l'urine.*

En opérant sur le mélange de grandes quantités d'urines, émises pendant une longue période de jours, MM. Pouchet (1) et Ch. Bouchard (2) ont annoncé l'existence d'alcaloïdes dans l'urine normale.

Contrairement à cette opinion partagée par M. A. Gautier (3), il résulterait de recherches récentes dues à M. A. Villiers (4) qu'en étudiant, non pas le mélange des urines de plusieurs jours, mais les urines quotidiennes de personnes en bonne santé ou du moins soi-disant bien portantes, celles-ci ne renfermeraient pas de leucomaïnes. Mais cette assertion a été sérieusement contestée, quoique les résultats des auteurs ne mentionnent la présence d'alcaloïdes que dans deux cas particuliers. Par contre, l'urine en contenait toujours à la suite d'indispositions même légères, telles que la bronchite faible, ou d'un simple malaise accompagné de fièvre.

M. Gautier a montré que les urines pathologiques contenaient une plus grande quantité de leucomaïnes que les urines normales, et M. Bouchard a retiré des urines dans le cas de maladies graves, spécialement de maladies infectieuses (pneumonie infectieuse, fièvre typhoïde, ictère grave), une quantité souvent notable de leucomaïnes dont il rattache la production à des microbes infectieux qui se développeraient anormalement dans le sang.

De ses premières recherches, complétées par la constatation de la présence des alcaloïdes physiologiques dans les urines d'individus atteints d'affections diverses, telles que la rougeole, la diphtérie, la phtysie, etc., M. Villiers conclut que les urines normales de sujets bien portants ne contiennent pas de bases organiques, mais que ces dernières peuvent apparaître dans les cas de lésions plus ou moins anciennes et persistantes qui passent inaperçues avec le temps. Il émet à ce propos l'hypothèse, partagée d'ailleurs par un grand nombre de physiologistes, que, de la rupture de l'équilibre entre la production dans le sang et l'élimination par les urines de ces leucomaïnes, il doit survenir une véritable intoxication, à laquelle pourraient être rattachés ces cas mortels où les lésions du rein diminuent leur action éliminatrice. C'est peut-être, en effet, à cette cause que nous pourrions rattacher les accidents de l'urémie, de la fièvre puerpérale, du coma diabétique, etc. (5).

(1) G. Pouchet, *Contribution à l'étude des matières extractives de l'urine*, Paris, 1880; — et *Compt. rend. de l'Acad. des Sciences*, t. XCVII, p. 1560.

(2) Bouchard, *Compt. rend. de la Soc. de biologie*, 12 août 1882; — et *Rev. de médec.*, 10 oct. 1882.

(3) A. Gautier, art. Ptomaïnes du *Complém. du Dictionn.* de Wurtz, p. 1313; — et Communication à l'Académie de médecine sur les ptomaïnes et les leucomaïnes, janv. 1886.

(4) A. Villiers, Sur les urines pathologiques, *Journ. de pharm. et de chim.*, 1885, t. XII, p. 246.

(5) Hugounencq, *Les alcaloïdes d'origine animale*, Paris, 1886.

b. *Procédés de recherche.*

1° M. Villiers évapore les urines de 24 heures, acidulées légèrement, d'abord au bain-marie, puis dans le vide. Le résidu solide est épuisé par l'alcool absolu et la solution, évaporée dans le vide. L'extrait dissout dans le moins d'eau possible, alcalinisé par le carbonate de soude est agité avec de l'éther. La solution éthérée, agitée avec quelques gouttes d'eau acidulée par l'acide chlorhydrique, cède à cette eau l'alcaloïde à l'état de chlorhydrate qu'on soumet aux réactions générales des bases organiques. La quantité obtenue est ordinairement trop faible pour permettre de différencier ces leucomaïnes entre elles.

2° M. Bouchard alcalinise avec de la soude les urines fraîches ou conservées au contact de l'acide borique et les agite ensuite avec de l'éther. La solution éthérée, évaporée, laisse un extrait qu'on reprend par l'acide sulfurique très étendu; celui-ci dissout les leucomaïnes et laisse leur sulfate par évaporation de la partie soluble.

L'auteur a évalué à 1 milligramme par jour la quantité d'alcaloïdes produite par un typhique.

3° MM. Chibret et Izarn (1) ont proposé, pour déceler la présence des leucomaïnes dans l'urine, d'ajouter directement au liquide excrété de l'iodure de potassium iodé (iode 8, iodure de potassium 10, eau 10). En opérant sur la solution bien refroidie, on obtient une fluorescence verte, visible surtout par un éclairage intense avec projection du tube d'essai sur un fond noir. Ils ont aussi trouvé que l'urine, émise huit heures après le réveil, renfermait environ cinq fois plus d'alcaloïdes que celle des autres heures de la journée, ce qui concorde avec l'observation de M. Bouchard sur la toxicité maximum de cette urine.

§ V. — SÉDIMENTS ET CALCULS URINAIRES.

Les sédiments urinaires sont constitués par des dépôts solides de matières organiques ou minérales, dont les uns existent tout formés dans l'urine au moment de l'émission, tandis que d'autres ne s'en séparent qu'après un certain temps. Selon que ces dépôts sont plus ou moins volumineux ou plus ou moins denses, ils se présentent sous forme de nuages, de poussières, de graviers ou de calculs. L'examen microscopique permet de les diviser en sédiments organisés et non organisés, normaux ou pathologiques.

Enfermée en vase clos aussitôt après son émission, l'urine normale se conserve indéfiniment sans altération sensible; elle abandonne seulement un léger dépôt floconneux de mucus contenant des cellules épithéliales qui proviennent des voies génito-urinaires et des corpuscules muqueux isolés. Au contact de l'air, elle prend une coloration plus foncée qui part de la surface (absorption d'oxygène), devient plus acide, et sous l'influence de l'acide acétique formé, laisse se déposer de l'acide urique et des urates acides de potassium, de sodium, d'ammonium, mé-

(1) Chibret et Izarn, *Acad. des Sciences*, 1886, t. CII, p. 1172.

langés souvent à de l'oxalate de chaux sous forme de cristaux qui entraînent avec eux une partie de la matière colorante. Ces *sédiments briquetés* se redissolvent quand on porte le liquide à 40 ou 50°. A ce moment l'urine renferme des quantités considérables de microorganismes semblables aux globules de la levure de bière.

Quelquefois avant cette période de fermentation acide et sous l'influence du refroidissement, l'urine concentrée ou riche en urates donne spontanément et rapidement naissance à un dépôt cristallin d'urates acides, qui peuvent d'ailleurs provenir de la réaction sur les urates neutres normalement contenus dans l'urine, du phosphate acide de sodium qui se transforme en phosphate basique d'après la formule :

$$2C^5H^2Az^4O^3.Na^2 + PhO^4NaH^2 = PhO^4Na^3 + 2C^5H^2Az^4O^3.NaH;$$

de sorte qu'à côté de sables uriques jaune brun, l'urine peut présenter, même dans la vessie, en dehors de toute fermentation, une réaction neutre ou alcaline (Voit et Hoffmann).

Au bout d'un certain temps, variable de deux jours à trois semaines, et quelquefois même de quatre à cinq mois (Ritter), l'acidité de l'urine qui a passé par un maximum diminue progressivement, et le liquide devient neutre, puis rapidement alcalin. Sous l'influence de la *torula ureæ* en chapelets de van Tieghem ou plutôt du ferment soluble de Musculus, secrété par cette torulacée (Pasteur et Joubert), l'urée s'hydrate et se transforme en carbonate ammonique, à côté duquel Dessaignes a trouvé des traces de triméthylamine qui proviennent sans doute de la neurine de Liebreich. En même temps les dépôts d'acide urique et d'urates se dissolvent, sauf l'urate d'ammonium dont la proportion augmente au contraire par suite de son insolubilité. Les carbonates et phosphates terreux se précipitent à l'état de sels neutres, de phosphates de chaux et ammoniaco-magnésien, sous forme de *sédiment blanc* qui renferment également de l'urate d'ammonium, et le liquide se recouvre d'une moisissure épaisse.

La fermentation alcaline peut d'ailleurs se produire dans la vessie, bien que due à une torulacée spéciale, soit qu'un sondage y ait introduit le germe, soit qu'il y ait pénétré spontanément (Pasteur). Ces urines peuvent donc renfermer, en suspension, le sédiment phosphatique, même au moment de leur émission.

On isole les dépôts urinaires en abandonnant l'urine au repos dans des vases coniques placés au frais. On décante le liquide surnageant, après tassement des éléments solides, et l'on en soumet à plusieurs reprises une gouttelette à l'examen microscopique; un grossissement de 300 diamètres est largement suffisant (1).

Les sédiments urinaires se divisent, comme on l'a vu, en deux groupes :

1° *Sédiments non organisés* renfermant des acides difficilement solubles : acide urique, acide hippurique et acides amidés; des composés neutres, peu solubles dans les liquides acides : cystine, xanthine, tyrosine, bilirubine, indigo et pigments divers; enfin, des sels peu solubles : urates acides, phosphates terreux, oxalate, carbonate et sulfate de chaux.

(1) Voir, pour les procédés de conservation des sédiments urinaires et de leurs préparations microscopiques, Neubauer et Vogel, *Anal. des urines*, trad. française de Gautier, 1877, p. 322.

Ces dépôts peuvent exister dans l'urine au moment de son émission, ou au contraire, n'y prendre naissance que postérieurement.

2° *Sédiments organisés* qui comprennent : débris épithéliaux et muqueux, corpuscules de pus, globules sanguins, cylindres urinaires, spermatozoïdes, sarcines, produits carcinomateux, bacilles de la tuberculose, champignons et ferments.

1. SÉDIMENTS NON ORGANISÉS.

A. **Acide urique et urates.**

a. *Conditions d'apparition dans l'urine.*

Les urines foncées, jaunes ou rouges, abandonnées au repos, donnent souvent naissance, surtout en hiver, à un sédiment de couleur, variant du jaune terreux au rose, qui trouble d'abord le liquide, et se dépose plus tard, tandis que l'urine devient claire. Tantôt cette séparation s'effectue presque instantanément; d'autres fois il s'écoule plusieurs jours avant qu'elle ne soit complète.

Ces *sédiments briquetés* sont caractéristiques de certaines affections fébriles : pneumonie, rhumatisme, accès de goutte; mais aussi ils peuvent se produire dans les urines concentrées. L'expérience apprend vite à reconnaître, d'après la coloration de l'urine au moment de l'émission, s'il va se former ou non un dépôt urique.

b. *Procédés de recherche.*

A. *Caractères chimiques.* — 1° Une partie du dépôt mis en suspension dans l'urine se redissout quand on chauffe à 40°, si le dépôt est dû à des urates : la coloration varie du jaune au rouge et la réaction de l'urine est en général très acide.

Le dépôt ne se dissout-il qu'à une température plus élevée, il est dû, dans ce cas, à de l'acide urique coloré en rouge plus ou moins foncé, et la réaction de l'urine est encore acide. L'urine chauffée, abandonnée au refroidissement, donne souvent des cristaux visibles à l'œil nu.

2° On peut soumettre le dépôt, lavé à l'alcool étendu, à la réaction de la murexide, p. 142.

B. *Caractères microscopiques.* — *Acide urique :* il se présente tantôt sous forme de cristaux tabulaires à quatre côtés, de prismes à six pans, ou de cristaux fusiformes très renflés au milieu, ou sous forme de haltères, presque toujours colorés en jaune ou en rouge;

Urate acide de soude : constitué par des grains amorphes très petits, rarement sous forme de prismes groupés en étoiles (fermentation acide et commencement de fermentation alcaline);

Urate acide de potasse : ce composé présente la plus grande analogie avec le précédent.

Traités sur le porte-objet du microscope par une goutte d'acide chlorhydrique, ces deux urates présentent, après l'évaporation spontanée, les formes cristallines de l'acide urique et des cubes de sel marin ou de chlorure de potassium;

Urate acide d'ammoniaque : masses globuleuses, brun jaunâtres et opaques,

entourées de pointes fines comme le fruit du châtaignier ; se trouvent surtout dans l'urine alcaline, mélangées aux phosphates terreux.

Après traitement par l'acide chlorhydrique, il se produit à la fois des cristaux d'acide urique et de chlorure d'ammonium ; ces derniers sont reconnaissables à leur forme dendritique.

B. Oxalate de chaux.

Conditions d'apparition. — On a vu précédemment les circonstances dans lesquelles l'oxalate de calcium des urines pouvait augmenter de façon à déterminer sa cristallisation partielle. Cette augmentation peut se produire aussi bien chez l'individu sain que dans l'organisme malade. Mais on ne sait pas encore à l'heure présente, s'il existe ou non, entre ces deux facteurs, une relation exacte de cause à effet.

Propriétés. — Le caractère microscopique de l'oxalate de chaux est tout à fait spécifique. Sa forme la plus habituelle en octaèdre, rappelant l'aspect d'une enveloppe de lettre, avec commencement de modification sur les arêtes, ne permet de confusions avec aucun autre corps. Mais il peut se rencontrer à l'état de prismes, terminés par des pyramides que l'on pourrait confondre avec les cristaux de phosphate ammoniaco-magnésien dont il se distingue par son insolubilité dans l'acide acétique, et des sphéroèdres, en forme de biscuits, semblables à du carbonate de chaux.

Ce dernier se dissout dans l'acide acétique avec dégagement de gaz, tandis que l'oxalate n'est soluble que dans les acides minéraux.

C. Phosphates terreux.

Conditions d'apparition. — Les sédiments phosphatiques dans l'urine consistent en phosphate ammoniaco-magnésien ($PhO^4MgAzH^4, 6aq$) et en phosphate tricalcique $(PhO^4)^2Ca^3$, que l'on rencontre le plus souvent mélangés. Ces sédiments, très solubles dans les acides, même faibles, n'apparaissent que dans les urines très peu acides, neutres ou alcalines, et par conséquent dans la fermentation ammoniacale, soit à l'intérieur de la vessie, soit après la miction seulement ; ils sont toujours blancs.

Propriétés. — Le phosphate ammoniaco-magnésien présente la forme caractéristique d'un couvercle de cercueil (prisme vertical et rhomboïdal).

Le phosphate de chaux existe tantôt à l'état pulvérulent, tantôt en cristaux minces aiguillés, groupés parfois en forme de rosace.

Ces phosphates se dissolvent facilement et sans effervescence dans l'acide acétique.

D. Cystine.

La cystine a été trouvée, mais rarement, dans des sédiments urinaires, à côté de ceux d'urate de soude. Elle présente la forme de tables hexagonales, solubles dans l'ammoniaque (caractère distinctif de l'acide urique). Les urines qui renferment des

sédiments de cystine sont quelquefois accompagnées de grosses concrétions de ce composé presque pur, jaunes, à structure cristalline, d'un volume variable de la grosseur d'une tête d'épingle à celle d'un pois et dont l'aspect caractéristique ne permet aucune confusion avec d'autres dépôts urinaires.

E. **Xanthine.**

Bien que la xanthine fasse partie constituante de l'urine normale, elle n'a été observée qu'une fois par Bence-Jones, sous forme de cristaux aplatis et ovalaires terminés en pointe, dans le sédiment de l'urine d'un garçon de 9 ans 1/2. Suivant Scherer, ces cristaux étaient constitués non par de la xanthine, mais par de l'hypoxanthine.

Les calculs de xanthine sont plus fréquents quoiqu'encore très rares. On en a rencontré quatre, l'un pesant en totalité 20 grammes (Liebig et Wöhler), le second étudié par Lebon (1), le troisième extrait, par Langenbeck, de la vessie d'un enfant de 8 ans et de la grosseur d'un petit œuf de poule, analysé par Harley (2), enfin le quatrième, plus considérable de 58 grammes (Garnier) (3).

Ces calculs sont formés de couches brillantes, alternativement blanches et roses, emboîtées les unes dans les autres; la coloration rouge est due à l'urobiline entraînée par la xanthine qui est blanche à l'état de pureté.

F. **Tyrosine.**

La tyrosine a été trouvée dans un sédiment cristallin, jaune verdâtre, de forme globuleuse, dans un cas d'atrophie aiguë du foie. Pour en préciser la nature il importe de la caractériser par ses réactions chimiques spéciales.

G. **Autres sédiments.**

On a encore signalé, mais très rarement, dans les sédiments urinaires, l'existence de l'*acide hippurique* cristallisé en prismes, de l'*indigo* en aiguilles bleu foncé, et de la *bilirubine* en tables rhomboïdales ou en aiguilles rouge brun. Pour préciser avec certitude la nature de ces composés il importe avant tout de les isoler et d'examiner ensuite leurs réactions chimiques.

Il en est de même du *sulfate de chaux*, trouvé sous forme de longues et minces aiguilles incolores dans une urine très acide, et du *carbonate de chaux* qui accompagne fréquemment les dépôts de phosphates, et dont la forme habituelle, en biscuits ou en haltères, se distingue de celle de l'oxalate de chaux par la solubilité avec effervescence dans l'acide acétique.

Comme l'étude des sédiments urinaires présente le plus grand intérêt pour le clinicien, il est utile d'adopter, dans leur examen microscopique, une marche méthodique que nous résumons dans le tableau suivant, dû à Huppert (4).

(1) *Compt. rend. de l'Acad. des Sciences*, t. LXXIII, p. 47.
(2) Harley, *De l'urine*, traduction du Dr Hahn, Paris, 1875, p. 250.
(3) *Arch. de physiol. norm. et patholog.*, numéro du 15 août 1884.
(4) Neubauer et Vogel, *Anal. des Harns*, 8e édit., p. 205.

Analyse méthodique des sédiments urinaires non organisés.

A. L'urine sédimenteuse est acide.

a Le sédiment *amorphe* est constitué par :

1° Granulations petites, peu cohérentes, à côté desquelles peuvent se trouver des cristaux d'acide urique et d'oxalate de chaux, solubles à chaud. — L'addition d'une goutte d'acide acétique concentré sur le bord de la préparation dissout ces grains et après quelques heures ou moins, ils sont remplacés par des cristaux rhomboïques d'acide urique : *sédiment d'acide urique.*

2° Masses en forme d'haltères.

α) Insolubles dans l'acide acétique fort, solubles dans l'acide chlorhydrique concentré, sans séparation ultérieure de cristaux : *oxalate de chaux.*

β) Insolubles dans l'acide chlorhydrique fort; probablement *sulfate de chaux*, qu'on caractérise chimiquement après décantation et lavage.

3° Granulations sphériques, fortement réfringentes, très brillantes par réflexion, solubles dans l'éther (colorées en noir par l'acide osmique) : *corps gras.*

4° Masses granuleuses amorphes jaunes : *bilirubine.*

b) Le sédiment *cristallisé* est constitué par :

1° Cristaux jaune-bruns, en forme de pierre à aiguiser, isolés ou en groupe, seuls ou à côté d'un sédiment d'urates amorphes et d'oxalate de chaux, solubles dans la soude. L'addition d'acide chlorhydrique concentré en sépare des tables rhomboïdales jaunes : *acide urique.*

2° Petites tables rhomboïdales jaunes, seules ou accompagnées de masses granuleuses amorphes de même coloration, souvent emprisonnées dans des éléments cellulaires, solubles dans la soude. — La solution traitée par une goutte d'acide azotique concentré donne une auréole diversement colorée dans laquelle se trouve une zone verte : *bilirubine.*

3° Octaèdres incolores (jaunes dans les urines ictériques), transparents, fortement réfringents (forme d'enveloppe de lettre), ou prismes quadratiques longs ou courts avec pointements octaédriques, insolubles dans l'acide acétique, solubles dans l'acide chlorhydrique : *oxalate de chaux.*

4° Cristaux semblables à ces derniers ou en forme de grands couvercles de cercueil (dans les urines très faiblement acides), solubles dans l'acide acétique : *phosphate ammoniaco-magnésien.*

5° Petites tables régulières hexagonales, à angles et côtés égaux, insolubles dans l'acide acétique, solubles dans l'ammoniaque : *cystine.*

6° Cristaux incolores, en forme de pierre à aiguiser, insolubles dans l'acide acétique, solubles dans l'ammoniaque et dans l'acide chlorhydrique; cette dernière solution donne des tables allongées à six pans : *xanthine.*

7° Tables grandes et plates, fortement réfringentes, rhombiques, allongées, solubles dans l'acide acétique, corrodées par le carbonate ammoniaque : *phosphate neutre de magnésie.*

8° Prismes isolés ou rangés en amas glandulaires :

α) Solubles dans l'ammoniaque : *acide hippurique.*

β) Insolubles dans l'ammoniaque et les acides : *sulfate de chaux.*

9° Prismes terminés en coins, isolés ou en rangs épais, couchés les uns sur les autres, dissociés par l'ammoniaque, solubles dans l'acide acétique : *phosphate neutre de chaux.*

10° Aiguilles très fines, groupées en touffes, insolubles dans l'acide acétique, solubles dans l'ammoniaque et l'acide chlorhydrique : *tyrosine.*

B. L'urine sédimenteuse est *alcaline.*

Si l'urine ne devient sédimenteuse qu'après son excrétion, elle peut encore renfermer les éléments constitutifs des sédiments de l'urine acide, tels que : acide urique, oxalate

calcique, cystine. Si la réaction est alcaline au moment de la miction, ou ne dépose de sédiment qu'après être devenue alcaline, ce sédiment peut renfermer les éléments suivants :

a) Sédiment *amorphe*, constitué par :

1° Granulations fines :

α) Solubles dans l'acide acétique sans dégagement de gaz : *phosphate terreux*.

β) Solubles avec dégagement de gaz : *carbonate terreux*.

2° Masses en forme d'haltères, solubles dans l'acide acétique avec dégagement de gaz : *carbonate de chaux*.

3° Boules foncées volumineuses, garnies de petits cristaux hérissés en pointes leur donnant l'aspect du fruit de châtaignier, quelquefois accolées, solubles dans l'acide acétique et l'acide chlorhydrique avec séparation ultérieure de tables rhomboïdales d'acide urique : *urate ammonique*.

b) Sédiment *cristallin* :

1° Gros prismes incolores, en forme de couvercles de cercueil, très facilement solubles dans l'acide acétique : *phosphate ammoniaco-magnésien*.

2° Amas d'aiguilles bleues, très fines, enroulées, ou petites tables bleues : *indigo* (qu'on peut confondre avec des poussières de charbon).

2. SÉDIMENTS ORGANISÉS.

A. Mucus et épithélium.

Toute urine normale renferme du mucus dont l'origine tient à la muqueuse des voies génito-urinaires et de la vessie, et qui, par le repos, se sépare du liquide clair en flocons nuageux, se rassemblant au fond du vase, et entraînant avec eux des cellules épithéliales granuleuses des voies urinaires et quelques *corpuscules muqueux*. Ceux-ci se présentent sous la forme de cellules rondes, fortement granuleuses, à un ou plusieurs noyaux, deux fois plus grosses environ que les globules rouges du sang, animées quelquefois d'un mouvement amœboïde, et difficilement reconnaissables à côté des globules blancs du sang ou des corpuscules de la lymphe, du chyle et du pus.

L'augmentation pathologique de la sécrétion du mucus rend le nuage précédent souvent très volumineux et plus riche en *cellules épithéliales*. Celles-ci sont de trois sortes : 1° *rondes*, généralement gonflées par le chlorure de sodium, avec noyaux bien formés, et provenant des canaux urinaires du rein et de la couche profonde de la muqueuse des bassinets, accompagnées ordinairement d'albumine dans l'urine, caractère qui permet de les distinguer des cellules provenant de l'urethère chez l'homme, lesquelles ressemblent beaucoup à l'épithélium des canalicules urinifères; 2° *coniques*, généralement deux fois plus longues que larges, avec prolongement sur un ou deux côtés et provenant ordinairement des bassinets; 3° *plates*, en lamelles polygonales avec noyau central bien apparent, originaires de la vessie ou du vagin.

B. Pus.

Le pus de l'urine se tasse assez rapidement par le repos. Il se présente au microscope sous forme de vésicules rondes, pâles, semblables aux cellules de mucus, granuleuses, de grosseur variable, en moyenne deux fois aussi grandes

que les globules du sang, à un ou plusieurs noyaux, très apparentes après l'addition d'acide acétique qui dissout les granulations, et associé fréquemment à des globules sanguins.

L'urine purulente est toujours *albumineuse*. On peut, jusqu'à un certain point, conclure à la quantité de pus qu'elle renferme par le dosage de cette albumine, à la condition toutefois de ne pas trouver de globules du sang ni d'albumine du sérum.

Le pus ne contient qu'une proportion relativement faible d'albumine. Si donc on a affaire à une urine renfermant peu d'albumine (0,1 p. 100) et un sédiment purulent considérable, ou beaucoup d'albumine (0,5 p. 100) et peu de pus, il n'y aura pas d'hésitation dans la conclusion. Dans le cas contraire, on devra, pour connaître l'origine de l'albumine, rechercher soigneusement les éléments histologiques et, en particulier, les cylindres.

Dans l'urine alcaline, surtout dans les cas de catarrhes vésicaux, le pus se trouve souvent en quantité considérable quoiqu'il soit impossible de le caractériser au microscope. Les globules, en effet, se sont transformés en une masse mucogélatineuse ne présentant plus rien d'organisé, analogue à du mucus et inaltérable en présence d'un peu de potasse; tandis que le mucus proprement dit se transforme en un liquide contenant quelques flocons en suspension. Quelquefois cependant, en examinant l'urine aussitôt après son émission, on réussit à y déceler quelques corpuscules de pus en suspension.

En présence du pus et dans les inflammations des voies urinaires, on trouve dans l'urine un grand nombre de corpuscules kytoïdes.

C. Globules sanguins.

Les globules sanguins qui apparaissent dans l'urine à la suite d'hémorrhagie des voies génito-urinaires se présentent au microscope sous la forme de disques jaunâtres, à dépression centrale qui, vus de champ, ressemblent à des biscuits; quelques-uns sont framboisés. Il se conservent très bien dans l'urine acide, mais ne s'agglomèrent plus en pile de monnaie; ils sont rapidement dissous dans les urines alcalines.

D. Cylindres urinaires.

Les tubes ou cylindres urinaires de Henle se trouvent dans le sédiment de l'urine, surtout chez les sujets affectés du mal de Bright. Comme ils n'existent généralement qu'en petit nombre, il importe de faire plusieurs préparations microscopiques pour arriver à les découvrir. Il faut les distinguer des coagulums muqueux qu'on trouve souvent dans l'urine à côté des urates; ces sédiments sont souvent accompagnés de pus, de sang, d'épithéliums, de graisse, et toujours d'albumine.

On rapporte les cylindres urinaires à quatre types :

1° *Cylindres ou gaines épithéliales*, formés par une agglomération régulière de petites cellules polyédriques à noyau net et provenant de l'épithélium des tubes de Bellini. Ils se rencontrent dans presque toutes les affections inflammatoires des reins (néphrites, scarlatine, etc.).

2° *Cylindres hyalins*, homogènes, très déliés, à extrémités circulaires, à contours peu prononcés et d'un pouvoir réfringent si voisin de celui de l'urine qu'on ne peut les distinguer facilement au microscope, à moins qu'on ne les ait colorés en jaune par l'iodure de potassium iodé, ou en bleu par le violet d'aniline. Ils peuvent avoir jusqu'à 1 millimètre de long et être contournés en tire-bouchons ou ramifiés suivant les tubes où ils ont pris naissance. Ils sont fréquemment couverts de cellules granuleuses ou de corpuscules lymphatiques, et peuvent accidentellement contenir des cristaux d'urate de soude, de phosphate de soude ou d'acide urique. Ils se rattachent d'ordinaire à toutes les affections aiguës et chroniques des reins, mais ont été trouvés dans la période de desquamation de la scarlatine, dans le choléra, la variole, la fièvre typhoïde et autres maladies infectieuses.

3° *Cylindres granuleux*, de coloration grise rappelant le verre mat, et remplis de granulations de volume variable, brillantes et très réfringentes. Ils proviennent de l'exsudation des tubes de Bellini, des affections chroniques des reins (mal de Bright).

Dans ces dernières affections, ainsi que dans les maladies subaiguës et dans la dégénérescence amyloïde du rein, on a signalé la présence de cylindres jaunâtres très réfringents, courts et larges, qu'on a appelés *cylindres cireux*, et d'autres dits *cylindres amyloïdes*, également réfringents, qui prennent une coloration brun acajou au contact de l'iodure ioduré de potassium et virent au bleu violet après l'addition d'acide sulfurique.

4° *Cylindres hématiques* ou *hémorrhagiques*, constitués par des globules sanguins, agglutinés dans les canalicules urinifères par de la fibrine, plus ou moins décolorés suivant leur âge, et provenant des hémorrhagies qui se produisent localement dans les inflammations aiguës du parenchyme rénal.

E. Spermatozoïdes.

La présence de spermatozoïdes dans l'urine peut se rattacher au coït, à une pollution nocturne ou à l'onanisme; on l'a encore observée dans le typhus et plus rarement à la suite d'une crise épileptique ou d'une attaque d'apoplexie. On trouve ces éléments dans les premières parties de l'émission urinaire. Ils se reconnaissent facilement à leur tête pyriforme, soudée à une très longue queue effilée et terminée en pointe. Quand l'urine n'est pas trop acide, ils peuvent conserver leurs mouvements pendant plus de 24 heures; quand elle est alcaline ces mouvements s'arrêtent; mais on peut encore reconnaître la forme des spermatozoïdes dans une urine putréfiée, même au bout de trois mois.

F. Fragments de tissus.

Les altérations tuberculeuses et cancéreuses de l'appareil urinaire sont accompagnées quelquefois de l'élimination d'éléments cellulaires, de fibres élastiques, de produits caséeux et même de fibres musculaires provenant des parties environnantes. On a même trouvé des poils développés sur la muqueuse vésicale (Rayet) ou provenant de kystes fœtaux, ouverts dans la vessie, et des lamelles de

tissus cartilagineux (Broca). On recherchera dans ces débris le bacille de la tuberculose de Koch par le procédé indiqué à propos de l'examen des crachats.

G. **Entozoaires.**

On a rencontré dans les urines certains helminthes, tels que les hydatides, le distoma hœmatobium des pays chauds, le filaria sanguinis humani, dans la chylurie (Filaria immitis de Cobbold), le strongle géant, enfin des lombrics qui avaient pénétré par perforation de l'intestin dans la vessie.

H. **Champignons et infusoires.**

Les champignons et infusoires se développent toujours dans l'urine, abandonnée pendant longtemps au contact de l'air. Quelquefois cependant, l'urine fraîchement émise en renferme déjà, puisqu'ils existent tout formés dans la vessie au sein du liquide en voie d'altération (catarrhe vésical), ou provenant d'un germe apporté du dehors par le cathétérisme, par exemple.

Les principaux de ces organismes sont :

1° Le *micrococcus ureæ* de la fermentation alcaline, torulacée formée de cellules globuleuses réunies en chapelets, à contenu homogène, de $1^{\mu},5$ de diamètre;

2° Les *champignons ovales* et transparents, plus gros que les précédents, semblables en tous points aux globules de la levure de bière; ils se développent dans les urines sucrées;

3° Les *champignons de la fermentation acide*, formés de cellules rondes ou ovales, à noyau apparent, isolées ou réunies en groupes ou en séries qui accompagnent souvent les sédiments briquetés;

4° La *sarcine*, constituée par des éléments isolés de $0^{\mu},8$ à $1^{\mu},6$ de diamètre, et plus fréquemment réunis en groupes régulièrement disposés, à côtés rectilignes de 8, 64, 512 globules et plus; cette sarcine urinaire est plus petite que celle de l'estomac.

On peut encore trouver dans l'urine, outre les bacilles de la tuberculose dans le cas du rein tuberculeux, le micrococcus punctiforme, réuni par groupes de deux ou de quatre dans la blennorrhagie, l'oxyure vermiculaire et le trichomonas vaginis qui auront passé du vagin dans l'urine.

3. CALCULS URINAIRES.

Les concrétions urinaires ont un volume très variable, depuis celui d'une tête d'épingle ou d'une lentille (gravier), juqu'à celui d'une noix et plus. Leur nombre est, comme pour les calculs biliaires, en raison inverse de leur volume. Il est évident *a priori* que ce ne sont que les plus petits qui peuvent être rejetés avec l'urine; les calculs volumineux sont extraits de la vessie par la taille ou la lithotricie, ou des diverses cavités rénales, après l'autopsie.

Rarement ils sont constitués par une seule substance, et la coupe, faite à la scie suivant un plan médian, montre souvent très nettement cette différence de

composition qui correspond à l'existence de couches concentriques, d'épaisseur et d'aspect très variables.

L'analyse doit, par suite, porter sur la poudre qui provient du sciage du calcul, et qui représente exactement sa constitution moyenne. Cependant quand il existe des couches assez épaisses pour être facilement séparées les unes des autres, il peut être intéressant d'analyser chaque couche séparément (calcul à noyau rose de xanthine et à couche périphérique de phosphates terreux).

Les éléments constituants des calculs urinaires peuvent être de l'acide urique et des urates, de la cystine, de la xanthine, des carbonates, de l'oxalate et du phosphate de chaux, du phosphate ammoniaco-magnésien, du phosphate basique de fer (très rose), du mucus, des matières colorantes et du sang.

A. **Caractères généraux des calculs.**

Les calculs *uriques*, quelquefois très volumineux, sont très fréquents. Leur surface est lisse ; leur dureté est assez grande ; ils sont généralement colorés en jaune plus ou moins brun.

Les calculs de *xanthine* sont très rares, brun clair ou rose, assez durs, ils deviennent brillants par le frottement, et sont formés de couches concentriques bien séparées et amorphes, se laissant très facilement déboîter les unes des autres. Nous en possédons un de forme ovalaire qui a 38 sur 20 millimètres de diamètre.

Ceux de *cystine*, encore fort rares, sont jaune mat, lisses, assez mous, à cassure cristalline, doux au toucher.

Les concrétions de nature *protéique* sont également exceptionnelles. Quelquefois cependant des calculs irréguliers de nature minérale ou organique ont provoqué, par le contact de leurs aspérités, des hémorrhagies des voies urinaires et se sont recouverts d'une couche mince de sang coagulé et desséché.

Les calculs d'*oxalate de chaux*, plus fréquents, sont, ou petits avec surface lisse, ou volumineux avec surface rugueuse, mamelonnée (calculs muraux), et dans ce dernier cas, souvent recouverts d'une couche brune d'origine hémorrhagique ; ils sont toujours très denses et fort durs.

Enfin les calculs *phosphatiques* sont en général volumineux, légers, blanchâtres, mous et poreux (phosphate ammoniaco-magnésien prédominant), ou plus durs (phosphate de chaux). Ils sont généralement mélangés de carbonate de chaux, ce qui tient à leur mode de production dans les urines alcalines des catarrhes vésicaux.

B. **Analyse des calculs.**

Avant de procéder à l'analyse d'un calcul, il est bon de laver à l'eau froide la poudre qui sera employée pour en extraire les éléments solubles de l'urine qui l'ont pénétré par imbibition. La poudre desséchée dans le vide est ensuite traitée méthodiquement (1).

(1) Consulter, pour plus de détails, le *Traité d'analyse chimique appliquée à la physiologie et à la pathologie*, de Hoppe-Seyler, trad. française de M. Schlagdenhauffen, 1877, p. 403 et suiv.

I. Calcination sur une lame de platine.

1° La substance noircit, répand une odeur cyanée et ammoniacale et ne laisse qu'un résidu insignifiant: *acide urique ou urate ammonique, cystine, xanthine, matières protéiques.*

2° La substance noircit comme précédemment, mais laisse un résidu blanc fixe qui, humecté dans l'eau :

a) ne bleuit pas le tournesol rouge : *les corps précédents, plus les phosphates terreux ;*

b) bleuit le tournesol : *tous les corps précédents, organiques et minéraux, plus les carbonate et oxalate de chaux et les urates alcalins et terreux.*

3° La substance ne noircit pas, mais laisse un résidu blanc qui :

a) ne bleuit pas le tournesol : *absence de composés organiques en quantité sensible, présence de phosphate terreux ;*

b) bleuit le tournesol : *absence de composés organiques, présence de phosphates terreux et de carbonate de chaux.*

II. Recherche des composés organiques.

1° On évapore dans une capsule en porcelaine un peu de matière imbibée d'acide azotique, en chauffant avec précaution; le résidu plus ou moins brunâtre devient pourpre au contact des vapeurs ammoniacales (réaction de la murexide): *acide urique et urates.*

2° Dans l'opération précédente le résidu est jaune serin, devient rouge au contact de la potasse seule et violet à chaud : *xanthine.*

3° Le résidu est brun foncé et n'est coloré ni par l'ammoniaque, ni par la potasse; la matière première est soluble dans l'ammoniaque et précipitée par l'acide acétique : *cystine.*

4° La calcination sur la lame de platine a donné une odeur de corne brûlée; la substance est soluble dans la potasse, précipitable par l'acide acétique, insoluble dans l'acide nitrique et colorée en rouge après l'ébullition avec le réactif de Millon : *matières protéiques* (sang coagulé, fibrine), très rares.

3° La poussière est brun noir, en partie soluble dans l'eau tiède qui se colore en rouge. La recherche des globules sanguins, après imbibition de la matière avec un liquide conservateur des globules et la préparation des cristaux de Teichmann, indiquera la présence du sang desséché.

III. Recherche des éléments minéraux.

a) Traiter la matière première, très légèrement imbibée d'eau, par de l'acide azotique : s'il se produit une effervescence, elle indique la présence de carbonate de chaux.

b) La solution nitrique est traitée par un excès d'ammoniaque et donne une solution (α) et un précipité (β). La solution (α), additionnée d'oxalate ammonique, laisse déposer, à l'état d'oxalate, la chaux du carbonate.

c) Le précipité (β), lavé à l'eau et redissout dans le moins possible d'acide azotique, puis additionné d'un excès d'acétate de sodium, laisse se précipiter l'oxalate de chaux seul.

d) Le liquide filtré, traité par de l'oxalate d'ammonium précipite la chaux du phosphate.

e) Le liquide filtré, traité par de l'ammoniaque donne un précipité de phosphate ammoniaco-magésien, formé aux dépens du phosphate de magnésium neutre (ou ammoniacal) préexistant.

f) Si la réaction précédente ne réussit pas, ce qui indique l'absence de sels de magnésium, le liquide précipite par le molybdate ammonique : *acide phosphorique du phosphate de chaux*.

g) Si la matière portée à l'ébullition avec de la potasse dégage de l'ammoniaque, on a affaire à de l'urate acide d'ammonium ou à du phosphate ammoniaco-magnésien.

§ VI. — SUBSTANCES MÉDICAMENTEUSES OU AUTRES, ÉLIMINÉES PAR LES URINES.

Une foule de substances médicamenteuses ou toxiques sont éliminées par les urines, tantôt sous leur forme primitive, tantôt après avoir subi des transformations préalables dans l'organisme. Les composés très solubles passent rapidement dans les urines et ceux qui sont susceptibles de modifications sous l'influence vitale peuvent échapper en partie à cette action et apparaître en nature, lorsque la quantité ingérée devient assez forte pour que l'économie humaine n'ait pas le temps de les transformer en totalité.

Comme le cadre de notre travail ne nous permet pas l'examen approfondi de tous ces composés, nous nous limiterons à la recherche de ceux dont il importe le plus au médecin de connaître les transformations et la présence dans les urines, bien que tous présentent un même intérêt au point de vue de l'étude générale de la physiologie.

1. COMPOSÉS INORGANIQUES.

1° Métaux lourds.

La plupart des métaux proprement dits : l'arsenic, l'antimoine, l'étain, l'or, le plomb, l'argent, etc., introduits dans l'économie à haute dose, apparaissent dans les urines; mais leur voie d'élimination normale est la bile.

La recherche précise de ces composés se fait d'après les méthodes analytiques décrites dans les traités spéciaux. On peut cependant employer, dans certains cas, des procédés plus simples, que nous allons décrire.

Mercure

Procédé de Fürbringer. — On introduit 300 centimètres cubes d'urine dans une fiole bouchée d'un demi-litre. On ajoute 7 à 8 centimètres cubes d'acide chlorhydrique jusqu'à forte réaction acide, puis 5 grammes de limaille de laiton (Zn, Cu) qui, au contact de l'acide forme un couple, sous l'influence duquel

l'urine, agitée de temps en temps et exposée pendant six heures à 40°, laisse le mercure se déposer à l'état d'amalgame sur l'alliage. Celui-ci recueilli sur un filtre, lavé à l'eau, puis à l'alcool et à l'éther, est séché, puis calciné fortement dans un tube à essai. Les vapeurs mercurielles se condensent sur les parois froides. On sort l'alliage et l'on introduit dans le tube une parcelle d'iode dont les vapeurs transforment le mercure en iodure rouge à froid, jaune à chaud. Un excès d'iode donne des cristaux qui dissimulent le sel de mercure et qu'il faut volatiliser dans un simple courant d'air.

Ce procédé très simple ne nous a donné de résultats bien nets que quand la proportion de mercure était notablement plus forte que celle de $0^{gr},001$ par litre, indiquée comme limite de sensibilité par l'auteur.

Il est préférable de recourir au procédé direct de la pile, applicable également à la recherche du plomb et du cuivre. Dans un vase à précipité contenant 500 centimètres cubes d'urine, fortement acidulée par l'acide chlorhydrique, on plonge deux fils de platine réunis aux pôles de deux éléments Bunsen groupés en série. Au bout de 12 heures au moins, le fil correspondant au pôle négatif est retiré, lavé à l'eau sans frottement, puis introduit dans un tube à essai au fond duquel on a mis un peu de liqueur de Labarraque additionnée d'acide acétique. Sous l'influence du chlore qui se dégage, le mercure déposé sur le platine se transforme en sublimé. Après agitation à l'air, pour chasser l'excès de chlore, on frotte le fil sur une feuille de papier à filtre blanc, imprégné d'une solution au 1/100 d'iodure de potassium; la moindre trace de mercure est décelée par une raie rouge d'iodure mercurique qui se dissout dans une goutte d'iodure concentré (Mayençon et Bergeret).

Le procédé ne réussit plus si l'urine est riche en iodure de potassium, à moins qu'on ne chasse l'iode au préalable, en chauffant l'urine avec de l'acide sulfurique saturé de vapeurs nitreuses.

Procédé Wolff et Néga (1). — Les auteurs se basent, comme Fürbringer, sur la sensibilité de la réaction de l'iodure rouge de mercure; mais, au lieu de recueillir le mercure au début de l'opération, sur les fils de laiton, ils commencent par faire passer un courant d'hydrogène sulfuré dans l'urine préalablement traitée par le mélange d'acide chlorhydrique et de chlorate de potasse. Le précipité de sulfure est repris par l'eau régale; dans ce liquide, additionné d'eau, mais néanmoins fortement acide, on trempe des fils de cuivre de $0^{m},0005$ de diamètre et de $0^{m},08$ de long pour fixer le mercure. On lave à la potasse et à l'alcool, et l'on chauffe dans un tube effilé à l'un des bouts.

Le mercure qui se dégage par la pointe est mis au contact d'un couvercle de vase dans lequel on a placé de l'iode cristallisé. Il se forme alors des cercles d'iodure rouge de mercure.

Plomb. — La recherche du plomb se fait aussi facilement que celle du mercure par l'emploi de la pile que l'on vient de décrire. Au lieu d'une strie rouge, c'est une raie jaune d'iodure de plomb qui prendra naissance au contact du papier ioduré et du fil de platine chloruré.

Cuivre. — Si l'urine renferme du cuivre, le fil de platine provenant de la pile,

(1) *Journal de pharmacie et de chimie*, Août 1887.

introduit après chloruration dans la flamme d'un bec de Bunsen ou d'une lampe à alcool, la colorera en vert, par suite de la volatilisation du chlorure cuivrique.

2° Sels terreux.

Les sels solubles de baryum, de calcium et de magnésium passent dans les urines en quantités très faibles, mais augmentent naturellement avec la proportion de sel ingéré, surtout pour le magnésium.

3° Sels alcalins.

Ils passent facilement dans les urines. Les carbonates, borates et silicates alcalins les rendent neutres ou alcalines; les sels de lithine, d'ammonium, le sulfocyanure de potassium, les chlorures, bromures et iodures, les chlorates et les sulfures, s'y retrouvent en partie à l'état de sulfates.

Bromures et iodures. — On constate facilement la présence du brome et de l'iode dans les urines en ajoutant à 50 centimètres cubes de liquide 2 à 3^{cc} d'acide azotique rutilant, puis un centimètre cube de sulfure de carbone. Après agitation, ce dernier réactif se réunit au fond du vase, plus ou moins coloré en jaune (brome) ou en rose violacé (iode). Si l'urine ne renferme que des traces de sel, on doit en évaporer un litre après addition de 2 grammes de potasse caustique pure, calciner le résidu, l'épuiser par 20^{cc} d'eau et soumettre la solution aqueuse à la réaction précédente.

Chlorates. — En présence des chlorates, l'urine très légèrement colorée par le sulfate d'indigo perd sa coloration par l'addition d'acide sulfureux en excès.

4° Acides minéraux.

A la suite de l'usage de limonades sulfurique, nitrique, phosphorique, ces acides passent dans les urines sous forme de sels alcalins; une partie reste libre à la suite d'un usage prolongé de ces boissons acides.

2. COMPOSÉS ORGANIQUES.

1° Dérivés alcooliques.

L'alcool et le chloroforme pris à l'intérieur ne passent dans les urines qu'en quantité minime. Le chloral n'est éliminé en nature qu'en très faible proportion, car la majeure partie se transforme en acide urochloralique.

Nous avons indiqué précédemment les transformations que subissaient dans l'organisme les dérivés aromatiques tels que les phénols, la nitrobenzine, etc. Ces composés se retrouvent dans les urines sous forme de dérivés sulfoconjugués ou hippuriques. L'antipyrine et la kairine passent en nature dans les urines, mais aussi en partie à l'état de combinaison sulfurique.

L'urine qui renferme de l'antipyrine se colore en rouge par addition de chlorure ferrique; en présence de la kairine, l'addition goutte à goutte d'une solution de chlorure de chaux à 10 p. 100 au liquide acidulé par l'acide acétique, donne encore une coloration rouge fuchsine.

2° Composés acides et salins.

Ingérés à l'état libre, les acides organiques citrique, tartrique, malique, oxalique et gallique (en lequel se transforme au préalable le tannin) passent en nature dans les urines; leurs sels alcalins sont transformés en carbonates. L'usage immodéré ou longtemps prolongé de l'acide oxalique ou d'aliments qui en renferment (oseille, rhubarbe), fait apparaître ce composé dans les urines, rarement à l'état libre, ordinairement sous forme d'oxalate de chaux.

Les dérivés sulfoconjugués des alcools et des phénols (sulfovinates et phénolsulfates alcalins) passent sans altération dans les urines.

L'acide benzoïque, l'éther benzoïque, l'essence d'amandes amères, l'acide cinnamique provenant des baumes de Pérou, de Tolu ou du benjoin sont transformés en acide hippurique.

Les acides oxybenzoïques et les isomères de l'acide salicylique sont transformés en acides hippuriques correspondants; l'acide salicylique est éliminé partie en nature ainsi que l'indique la coloration violette au contact du chlorure ferrique, partie à l'état d'acide salicylurique.

L'acide toluique donne de l'acide tolurique, l'acide anisique de l'acide anisurique, tous dérivés qui sont à l'acide primitif ce qu'est l'acide hippurique à l'acide benzoïque.

L'acide pyrogallique se retrouve en nature dans les urines.

L'asparagine est transformée en acide succinique.

Ainsi qu'on l'a vu, les résines apparaissent dans les urines sous forme d'abiétinates alcalins dont l'acide insoluble est précipité par l'addition d'acide nitrique.

3° Bases organiques.

La plupart des alcaloïdes, en particulier la morphine, la quinine et la strychnine, sont éliminés en forte proportion par les urines.

Quinine. — Pour rechercher la quinine, on précipite 250^{cc} d'urine par le tannin; le précipité lavé est mis en digestion avec un lait de chaux qui déplace la quinine du tannate insoluble, évaporé au bain-marie, puis repris par de l'alcool éthéré. Le résidu de la solution évaporée à siccité, redissout dans quelques gouttes d'eau acidulée, se colore en vert émeraude par l'addition successive d'eau chlorée et d'ammoniaque.

En projetant un faisceau de rayons lumineux à la surface de la solution aqueuse de l'extrait éthéro-alcoolique maintenue contre un fond noir, il traverse le liquide de haut en bas sous forme de cône lumineux avec une coloration bleue due à la fluorescence de la quinine; cette réaction est encore sensible avec 1/400.000^e d'alcaloïde en solution (Flückiger).

4° Matières colorantes et odorantes.

Beaucoup de matières colorantes et odorantes sont éliminées par les urines; telles sont les pigments de l'indigo, de la garance, de la gomme-gutte, de la rhubarbe, du campêche, des carottes, des mûres, etc., et les principes odorants de la

valériane, du safran, de la térébenthine, des baumes, de l'asa fœtida et du castoreum.

Nous savons déjà que, sous l'influence de la santonine, l'urine devient jaune verdâtre comme les urines bilieuses dont elle se distingue cependant par la coloration rouge cerise ou pourpre qu'y produit l'addition de la potasse.

Les dérivés du groupe de l'indigo passent dans l'urine après l'injection souscutanée ou la résorption stomacale de l'indol qui fournit de l'indican. L'ingestion de l'isatine fournit une matière colorante rouge très voisine de l'urrhodine.

Mais l'étude de l'élimination des matières colorantes naturelles ou artificielles ou de leurs modifications et transformations dans l'organisme laisse encore beaucoup à désirer.

CHAPITRE II.

ANALYSE DU SANG.

GÉNÉRALITÉS.

Le sang est formé d'une partie liquide, le plasma, dans lequel sont tenus en suspension des éléments figurés, globules rouges, globules blancs ou leucocytes et hématoblastes de Hayem.

Il n'existe actuellement aucun procédé de séparation ni d'analyse des globules blancs et des hématoblastes, bien que, par suite de leur moindre pesanteur spécifique, les premiers s'accumulent de préférence dans la partie supérieure du caillot sanguin (couenne inflammatoire).

Tandis que l'analyse du plasma sanguin est relativement facile, il n'en est plus de même de celle des globules rouges. En effet, on les obtient intacts, mais imprégnés de sérum quand on les laisse se déposer dans le sang défibriné, abandonné au repos. Si l'on recourt à l'addition de solutions salines pour faciliter leur séparation, ils éprouvent des changements dans leur forme et très probablement aussi dans leur constitution chimique, par suite de phénomènes d'osmose. D'autre part, il est très difficile, sinon impossible d'arriver à séparer les globules par le filtre, à cause de l'élasticité et de la souplesse de leur enveloppe (!) qui les fait passer à travers les pores les plus ténus, même quand leur substance a été durcie par le contact de solutions salines.

Enfin, l'addition de la plus petite quantité d'eau au sang suffit pour altérer les globules et produire un passage de la matière colorante dans le sérum; aussi doit-on, pour éviter un dépôt d'eau de condensation, sur les parois du vase dans lequel on recueille le sang au sortir de la veine, n'employer que des vases chauffés au préalable à 37-39° et les remplir autant que possible.

La coagulation du sang commence quelques minutes après sa sortie des vaisseaux; elle est accélérée par la chaleur, le contact de l'oxygène (battage), la dilution du sang (hémorrhagie, hydrurie) ou l'addition de petites quantités de sel. Elle est retardée par la présence d'un excès d'acide carbonique (sang veineux) par le froid, considérablement ralentie par l'addition de solutions salines telles que les sulfates de soude ou de magnésie et l'azotate de potassium, enfin complètement empêchée par l'addition de chlorure de sodium ou de potassium concentré ou par l'acide acétique en certaine proportion.

Les globules rouges présentent une composition assez simple. Pour les isoler du sérum, on mélange le sang défibriné avec neuf fois son volume d'eau additionnée de 1 volume de chlorure de sodium saturé et on laisse reposer au frais

pendant 24 heures. On décante le liquide surnageant et on lave la masse de globules avec la même solution salée pour éliminer tout le sérum. Les globules traités par une petite quantité d'eau, sans agiter, ou mieux par un mélange d'eau et d'éther en agitant, se transforment en une masse gélatineuse incolore qu'on peut recueillir sur un filtre et qui présente les caractères des *globulines;* cette matière albuminoïde, insoluble dans l'eau, est mélangée de *nucléine* dans le cas de globules à noyau provenant du sang des oiseaux. La solution éthérée renferme de la cholestérine, de la lécithine, une matière colorante jaune, mais pas de graisses. Le liquide aqueux tient en dissolution un peu de matière albuminoïde, l'hémoglobine, qui cristallise plus ou moins facilement avec certains sangs (cobaye, rat, chien) et, suivant la proportion d'eau, des sels avec prédominance de phosphates alcalins surtout et de potassium.

Le globule physiologique contient en outre des gaz, principalement de l'oxygène. On y a encore signalé la présence d'un ferment glycogène.

Le *plasma sanguin* renferme des principes constitutifs beaucoup plus nombreux. Outre l'eau, il contient des matières albuminoïdes, des globulines génératrices de la fibrine, de la caséine, de la sérine, de la fibrine soluble (Eichwald), le ferment de la fibrine (Schmidt), des graisses, de la cholestérine, des savons de la glucose, du glycogène, de l'*urée,* de la créatine et de la créatinine, des sels parmi lesquels du chlorure de sodium en majeure partie, et des gaz, principalement de l'azote et de l'acide carbonique.

On y rencontre encore, comme éléments anormaux, des acides gras, de l'acide lactique, hippurique et succinique (herbivores), de l'acide urique, de l'hypoxanthine, des acides et des matières colorantes biliaires, de la méthémoglobine, de l'indigogène, de l'inosite, de la leucine et de la tyrosine, des peptones, du carbonate d'ammonium, enfin des métaux, du cuivre, du plomb, du zinc, etc.

§ I. — MÉTHODES D'ANALYSE DU SANG.

Le but de l'analyse du sang est de rechercher en premier lieu la nature des éléments organiques et minéraux qui entrent dans la composition de ce liquide et de déterminer ensuite la part qui revient séparément aux globules et au plasma. Ces recherches entreprises d'abord par Prévost et Dumas à l'aide d'une méthode spéciale, modifiée par Becquerel et Rodier, Scherer, Bopp, etc., n'ont conduit qu'à des résultats d'une précision relative. Mais on doit à Hoppe-Seyler, Schmidt et Bouchard, des travaux comportant plus d'exactitude.

Nous n'exposerons ici que ces nouvelles méthodes générales en les faisant suivre de la description des procédés spéciaux, propres à la détermination de certains éléments isolés les plus importants, après avoir indiqué tout d'abord les procédés employés pour la numération des globules.

1. NUMÉRATION DES GLOBULES ROUGES.

Vierordt le premier s'est occupé de cette question; mais au procédé long et compliqué qu'il a imaginé dans le temps et qui a été quelque peu modifié plus

tard par Welcher et Gowers, l'on doit préférer l'une ou l'autre des méthodes suivantes :

α. Procédé de Malassez (1).

On dilue le sang à l'aide d'un sérum artificiel, constitué par un mélange de 1 volume de solution aqueuse de gomme arabique de $D = 1.020$ et de 3 volumes d'une solution à parties égales de sulfate et de chlorure de sodium de même densité. On se sert dans ce but du mélangeur de Potain, petite pipette à tube capillaire renflé en ampoule à son tiers supérieur ; dans cette ampoule se meut une petite boule de verre. De l'extrémité effilée de la pipette jusqu'à l'ampoule au-dessous de laquelle se trouve un trait, le tube capillaire présente une capacité de 1/100e du volume de l'ampoule, limité au-dessus par un second trait. A l'aide d'un tube de caoutchouc fixé sur la partie supérieure de la pipette, on remplit, par aspiration, la partie capillaire de sang pris sur une goutte provenant d'une piqûre faite sur la pulpe de l'extrémité d'un doigt. On aspire du sérum artificiel de façon à remplir l'ampoule, puis on agite, pour mélanger intimement le sang et le sérum. On introduit un peu du sang dilué au 1/100e dans un capillaire artificiel, tube fin en verre calibré et cubé, qu'on examine au microscope. On compte les globules sur un micromètre quadrillé d'une valeur connue. En répétant cette numération, on doit, si le mélange était homogène, obtenir des nombres ne différant entre eux que de 5 p. 100 au maximum.

On multiplie la moyenne de ces nombres (N) par un coefficient (c) inscrit sur la lame du capillaire en regard de la valeur du carré quadrillé et donnant la fraction de millimètre cube correspondante (coefficient 206 ou 1/206 de millimètre cube pour la valeur 500 μ), puis par le titre du mélange 101 ou 201, s'il est au centième ou au deux-centième ; on obtient ainsi le nombre (X) de globules par millimètre cube de sang pur, représenté par la formule générale

$$X = N \times c \times 101,$$

ou

$$X = N \times c \times 201.$$

Remarque. — Une *bonne* numération comporte, comme on l'a vu, 5 p. 100 de divergence maxima dans les résultats, soit 9 d'erreur possible sur 180 globules trouvés par exemple. On multiplie ce chiffre 9 par les coefficients 206×101 ou 206×201, suivant que la dilution est au 1/101e ou au 1/201e, ce qui donne les chiffres de 187.254 ou 374.508, qui représentent les erreurs minima dont sont entachés les résultats. En d'autres termes, les nombres obtenus avec le procédé de Malassez par millimètre cube de sang sont passibles d'une erreur qui, avec le coefficient employé 206, peut monter à 374.508, soit en chiffres ronds 400.000 globules.

Les résultats n'ont donc aucune valeur absolue et doivent être accueillis avec une réserve extrême, surtout quand ils proviennent d'expérimentateurs différents. Ils auront cependant une certaine valeur relative entre les mains d'un même observateur opérant toujours de la même façon.

(1) Malassez, *Archiv. de physiologie*, 1874.

β. Procédé de Hayem et Nachet (1).

Le mélange du sang et du sérum artificiel se fait à l'aide d'un petit agitateur en verre dans une éprouvette de 3 ou 4 centimètres cubes de capacité. On dépose une goutte du mélange titré (5 millimètres cubes de sang pour 5/10 de centimètres cubes de sérum par exemple, mélangé à 5/505 ou 1/101e) dans une cellule formée par une lamelle épaisse de 1/15 de millimètre, percée à son centre d'un trou circulaire d'environ 1 centimètre de diamètre et collée sur une lame de verre, et l'on recouvre d'une lamelle de verre.

L'oculaire du microscope contient une glace sur laquelle est gravé un carré quadrillé et le tube rentrant du microscope est enfoncé dans sa monture jusqu'à un trait, calculé de façon que le côté du carré ait, avec un objectif convenu (n° 2 de Nachet), une valeur de 1/5 de millimètre, égale à l'épaisseur de la cellule. On a ainsi, sous les yeux, la projection d'un cube d'un cinquième de millimètre de côté. Au bout de quelques minutes, les globules sont déposés au fond de la cellule. On compte ceux qui sont compris dans le carré quadrillé en seize parties (N) et l'on multiplie le nombre trouvé par 125 pour savoir ce que renferme 1 millimètre cube du mélange, puis par le titre (c) du mélange pour connaître enfin la richesse (X) de 1 millimètre cube de sang primitif; on applique la formule :

$$X = N \times 125 \times \frac{1}{c}.$$

Remarque. — Le coefficient de dilution c peut varier de 1/101 à 1/501 ; le nombre de globules trouvés est donc multiplié par les cofficients 12.625 ou 62.625. Les erreurs de numération, multipliées dans la même proportion, font que ce procédé est sujet aux mêmes critiques que celui de Malassez.

2. NUMÉRATION DES GLOBULES BLANCS.

On ne possède encore aucun procédé qui permette d'isoler, et par suite de doser les globules blancs du sang. Aussi doit-on se contenter de déterminer à l'aide du microscope, et par l'un des procédés décrits précédemment, la proportion relative des globules blancs et des globules rouges. On opère non pas sur le sang pur, dans lequel les globules rouges masquent toujours une partie des globules blancs, mais sur le sang dilué au 1/50e seulement, à cause de la faible proportion des globules blancs (1 pour 350 à 500 globules rouges environ).

3. DOSAGE DES GLOBULES SANGUINS.

On a tenté depuis une trentaine d'années de nombreux essais de dosage des globules rouges contenus dans une quantité déterminée de sang. Mais, laissant de côté tout ce qui se rapporte l'historique de la question, nous rappellerons seulement que les globules rouges des mammifères contiennent un tiers seule-

(1) *Gazette hebdomadaire*, 1875, n° 19.

ment de leur poids d'éléments solides pour deux tiers d'eau et nous ne citerons dans les paragraphes suivants que les procédés de dosage qui donnent de bons résultats. Ces procédés se réduisent à trois.

α. Dosage des globules humides, par la quantité de fibrine contenue dans le sang et dans le plasma (Hoppe-Seyler) (1).

Principe. — Les globules du sang abandonné au repos à une basse température se tassent au-dessous du plasma qui surnage. On détermine les quantités de fibrine qui existent dans le sang total et dans le plasma et l'on s'en sert pour calculer le poids des globules humides.

Opération. — *a*) On recueille une grande quantité de sang dans une éprouvette entourée de glace; au bout d'un temps suffisant, on prélève 30 à 50^{cc} du plasma qui surnage les globules, et l'on y dose la fibrine d'après le procédé indiqué p. 155.

b) On dose la fibrine dans une nouvelle portion de sang, soit encore 30 à 50^{cc}.

Soient f le poids de fibrine contenue dans le volume p de plasma et F la fibrine du sang, P le poids du plasma total du sang S; la proportion suivante donne évidemment P :

$$\frac{P}{F}=\frac{p}{f}, \quad \text{d'où} \quad P=\frac{Fp}{f},$$

le poids des globules est par suite de S — P,

$$\text{soit} = S - \frac{Fp}{f}.$$

Remarque. — Les dosages qu'exige cette méthode doivent être effectués avec la plus grande précision; car, à cause de la faible quantité de fibrine contenue dans le sang, les erreurs se trouvent considérablement multipliées.

En outre, le procédé exige que la fibrine se coagule lentement et que les globules se tassent rapidement. Il n'est donc applicable à l'état physiologique que pour le sang de cheval; mais il peut encore être utilisé pour le sang des individus atteints d'affections inflammatoires.

On obtient ainsi le poids total des globules rouges et blancs. En général, le miscroscope permet de voir si la proportion des globules blancs est négligeable, ce qui est le cas le plus fréquent, sauf pour le sang de la veine splénique, le sang pyémique ou leucémique.

β. Dosage des globules humides d'après la quantité d'hémoglobine et de matières albnminoïdes qu'ils renferment (Hoppe-Seyler) (2).

Principe. — Les globules sanguins sont insolubles dans les solutions de sel marin à 15 p. 100 au moins de sel, qui ne leur enlèvent ni hémoglobine ni ma-

(1) *Traité d'analyse chimique appliquée à la physiologie*, de Hoppe-Seyler, trad. française de M. Schlagdenhauffen, Paris 1877, p. 441.

(2) *Loc. cit.*, p. 442.

tières albuminoïdes; cette propriété permet donc de les séparer du sérum par tassement et lavage avec la solution salée. Cela posé, on détermine la quantité (A) d'hémoglobine et de matières albuminoïdes que renferment les globules d'une quantité déterminée de sang.

Dans une autre partie de sang, on dose la somme (B) de la fibrine, des matières albuminoïdes et de l'hémoglobine. On en retranche la quantité (A) d'hémoglobine et de matières albuminoïdes, fournie par la première opération, ainsi que la proportion (C) de fibrine donnée par un dosage spécial ce qui fournit le poids des matières albuminoïdes (D) du sérum sanguin :

$$D = B - (A + C).$$

Enfin, comme l'analyse du sérum (s) décèle la quantité de matières albuminoïdes (d) qu'il renferme, on parvient à établir le poids total du sérum (S) au moyen de la relation suivante :

$$\frac{S}{D} = \frac{s}{d}; \quad \text{d'où} \quad S = \frac{Ds}{d}.$$

Le plasma total pèse S + le poids de fibrine donné par le troisième dosage. En retranchant son poids de celui du poids de sang entier correspondant, on obtient le poids des globules humides.

Manuel opératoire. — La méthode comportant quatre opérations, on divise le sang en quatre parties :

a) On reçoit la première partie, 20 à 50^{cc} environ dans un vase à fond plat que l'on ferme hermétiquement et que l'on pèse. Puis on y détermine le poids (B) des matières albuminoïdes et de l'hémoglobine de la masse totale du sang, d'après la méthode qui sera décrite à propos de l'analyse du sérum (p. 155).

b) Une seconde partie, égale à la précédente, sert au dosage spécial de la fibrine (voir p. 155) et en donne la proportion (C).

c) On élimine la fibrine d'une troisième portion du sang. Le battage terminé, on laisse refroidir le sang et l'on pèse; puis on verse le sang battu dans un flacon contenant 10 volumes de solution de sel au 1/10e de saturation. On abandonne au repos pendant 12 à 24 heures au bout desquelles on sépare le sérum dilué des globules qu'il surnage. On lave ces globules encore une ou deux fois avec la même solution saline, puis on les coagule par l'alcool et l'on détermine le poids total (A) des divers principes constituants des globules d'après le procédé déjà employé pour l'opération *a*).

d) Enfin, on abandonne à la coagulation dans un vase à large surface, mais couvert, une quatrième portion de sang, plus abondante que les précédentes; on décante une partie du sérum (s) dans lequel on dose encore les matières albuminoïdes (d) comme en *a*).

Tous ces résultats doivent être rapportés à 100 de sang total, avant d'entrer dans les calculs qui donneront la solution du problème.

Remarque. — Cette deuxième méthode fournit des résultats précis. Mais elle n'est applicable qu'aux variétés de sang telles que celui des oiseaux, des reptiles et des poissons dont les globules se séparent facilement après le mélange avec la solution de sel. Elle n'est plus applicable au sang des ruminants

et de pore ; et bien qu'on ne puisse prévoir comment se comporteront les globules du sang de l'homme et des mammifères dans la solution salée, le procédé donne le plus souvent d'excellents résultats pour le sang humain.

γ. Méthode de Bouchard pour le dosage des globules humides.

Cette méthode très ingénieuse est fondée sur cette observation que le sang, mélangé à une solution de saccharose de densité 1.026 se coagule sans que les globules perdent sensiblement de leurs principes constitutifs. On compare ensuite la composition du sérum sucré à celle du sérum naturel et par un dosage complémentaire de la fibrine, on arrive à la détermination du poids des globules humides.

Manuel opératoire. — L'opération comporte trois dosages.

a) Une première portion de sang (15 à 20 grammes) est abandonnée à la coagulation dans une capsule. Au bout de 12 à 24 heures, on dose par la pesée l'albumine contenue dans 4 grammes environ du sérum surnageant : soit (a) le poids d'albumine de 1 gramme de sérum pur.

b) Une deuxième portion de sang, égale à la première, est versée dans une capsule contenant 10 grammes de solution de sucre de $D = 1.026$ et abandonnée à la coagulation. On dose encore l'albumine du sérum sucré : soit (a') le poids de l'albumine de 1 gramme de sérum sucré.

c) Une troisième portion de sang est consacrée au battage et au dosage de la fibrine (p. 155) dont la quantité est (f) pour 100 de sang.

Calcul. — Soit (x) la quantité inconnue de sérum contenu dans chaque capsule et (p) le poids de solution sucrée ajouté au sang dans la deuxième capsule. Les quantités de sérum contenu dans chaque capsule contiennent respectivement ax et $a'(x + p)$ d'albumine ; et comme le globule n'a cédé aucun de ses éléments albuminoïdes au sérum sucré, les proportions d'albumine contenus dans chaque sérum sont égales. On a donc

$$ax = a'(x + p),$$

d'où

$$x = \frac{a'p}{a - a'}.$$

En ajoutant au poids du sérum ainsi trouvé et calculé pour 100 de sang, e poids de la fibrine calculé à l'aide de la troisième opération et retranchant cette somme du sang total, on obtient le poids des globules humides.

4. DOSAGE DE LA FIBRINE DU SANG OU DU PLASMA.

On se sert d'un petit flacon fermé par un bouchon de caoutchouc traversé par un batteur en bois, élargi en palette par le bas, et touchant presque le fond du vase.

On introduit dans l'appareil taré 30 à 40^{cc} soit du sang de la veine, soit du plasma obtenu par abandon du sang à 0°. On ferme ; on agite pendant 10 minutes et l'on pèse ; l'excès de poids représente le sang ou le plasma. On remplit

ensuite le flacon d'eau, on agite et on laisse déposer la fibrine. On décante la fibrine et l'on recueille sur un petit filtre la fibrine précipitée et celle qui est restée adhérente au batteur; on lave avec de l'eau pure jusqu'à ce que la fibrine n'ait plus qu'une teinte rose pâle. A ce moment, on traite par de l'alcool bouillant qui enlève les corps gras, on dessèche à 110° et l'on pèse, après refroidissement, sous la cloche à acide sulfurique.

Remarque. — Le procédé précédent convient au sang des mammifères dont les globules n'abandonnent à la fibrine, en se dissolvant, qu'une quantité négligeable de globuline. Il n'en est plus de même du sang d'oiseaux et de reptiles, pour lesquels il faut employer une solution de sel marin de 1 à 3 p. 100, ou mieux de sulfate de soude, pour la fibrine, jusqu'à entière disparition des globules et de la globuline qui se dissout dans la solution saline.

Dans les cas où l'on veut faire une analyse complète du sang, on doit conserver les eaux de filtration et de lavage pour les faire rentrer dans le dosage de l'hémoglobine.

5. DOSAGE DE L'HÉMOGLOBINE.

Un très grand nombre de procédés de dosage de l'hémoglobine ont été successivement proposés, les uns visant surtout à la facilité et à la rapidité d'exécution nécessaires aux recherches cliniques, les autres devant répondre au contraire aux exigences plus sévères d'un travail de laboratoire. La difficulté principale que rencontre la détermination de l'hémoglobine, c'est la nécessité qui s'impose, aussi bien en clinique qu'en physiologie, de n'opérer que sur de très faibles quantités de sang. D'une part, en clinique, la suppression presque absolue de la saignée ne laisse plus d'autre alternative. D'autre part, les physiologistes ont reconnu que des soustractions répétées de quantités de sang, même relativement faibles, altèrent la composition de ce liquide, et que, si au cours d'une expérience on veut suivre les variations de l'hémoglobine, il faut se borner à des prises de sang très faibles, sous peine d'altérer notablement les conditions de l'expérience.

Il résulte de là que les procédés purement chimiques, qui exigent en général une notable quantité de sang, sont relégués au second plan, et remplacés par des procédés chromométriques ou optiques, souvent moins exacts, mais plus simples et plus rapides et ne demandant que quelques gouttes de liquide. Enfin dans ces dernières années, la méthode spectrophotométrique, décrite au début de cet ouvrage, a été appliquée avec succès au dosage de l'hémoglobine. Tout en n'exigeant que des quantités minimes de sang, elle semble présenter toutes les conditions d'exactitude désirables.

Il n'entre pas dans le plan de cet ouvrage de décrire tous les procédés que comporte chacune de ces trois méthodes, chimique, chromométrique et spectrophotométrique. Nous n'insisterons que sur les procédés qui nous ont semblé être particulièrement exacts et commodes (1).

(1) Une étude complète des divers procédés de dosage de l'hémoglobine a été faite par Malassez (*Arch. de physiol.*, 1877) et par Lambling (*Thèse*, Nancy, 1882). — Voyez aussi pour les méthodes optiques le travail de Branly (*Ann. de chim. et de phys.*, (5), t. XXVII, p. 238).

A. Méthodes chimiques.

Ces méthodes consistent, en général, à doser soit un produit immédiat de décomposition de la matière colorante, soit l'un des principes élémentaires qui entrent dans sa composition.

1. Dosage de l'hémoglobine par l'oxygène absorbé.

L'hémoglobine forme avec l'oxygène une combinaison cristallisée, chimiquement bien définie, qui est l'oxyhémoglobine. Cette combinaison se dissocie en oxygène et en hémoglobine chaque fois que, pour une température déterminée, la tension de l'oxygène ambiant tombe au-dessous d'une certaine valeur. Ainsi, à la température de 35 degrés, la dissociation de l'oxyhémoglobine de sang de chien commence sous une pression en oxygène de 25 millimètres de mercure. Sous l'action du vide, aidé surtout d'une élévation de température, cette dissociation est rapidement complète, et la quantité d'oxygène ainsi recueillie est évidemment dans un rapport défini avec le poids de matière colorante qui l'a fournie. Il résulte de là que tout procédé de dosage de l'oxygène dans le sang pourra servir à la détermination de l'oxyhémoglobine, à condition que l'on connaisse le volume d'oxygène fixé par l'unité de poids d'hémoglobine.

A la vérité, le sérum tient en dissolution une petite quantité d'oxygène, soit environ, d'après des déterminations faites par Hüfner, $0^{cc},38$ pour 100 centimètres cubes de sérum à 16 degrés. A 37 degrés, la proportion de gaz dissous est plus faible encore et parfaitement négligeable, si l'on considère les autres causes d'erreur que comporte une détermination de gaz du sang. Ajoutons enfin que la forme particulière et inconnue (combinaison avec la lécithine?), sous laquelle l'hémoglobine existe dans le globule sanguin, n'exerce aucune influence sur la quantité d'oxygène fixée, puisque la capacité respiratoire d'un sang frais reste la même après destruction du globule et dissolution de la matière colorante dans le plasma.

Reste donc à déterminer la quantité d'oxygène que peut fixer 1 gramme d'hémoglobine. — Ce chiffre peut être prévu par les considérations théoriques suivantes : si l'on admet qu'à un atome de fer dans l'hémoglobine correspond un atome d'oxygène, le rapport constant qui doit *a priori* exister entre ces deux éléments sera :

$$\frac{Fe}{O} = \frac{56}{16},$$

d'où :

$$O = Fe \times 0,2857.$$

Donc, si 100 grammes d'hémoglobine, d'une certaine espèce animale, contiennent $0^{gr},42$ de fer, la quantité théorique d'oxygène fixée sera $0^{gr},42 \times 0,2857$ ou $0^{gr},12$ d'oxygène, ce qui fait $0^{cc},8369$ d'oxygène (1) pour 1 gramme d'hémoglobine. Or ce chiffre est inférieur à tous ceux qui ont été fournis par l'expé-

(1) Tous les volumes gazeux cités dans ce chapitre sont ramenés, sauf indication contraire, à $0°$ et à 760^{mm}.

rience. Si donc on ne veut pas admettre de rapport compliqué entre l'oxygène et l'hémoglobine, on peut supposer qu'à un atome de fer correspondent deux atomes d'oxygène, ce qui ferait 0gr,24 d'oxygène pour 100 grammes d'hémoglobine ou 1cc,67 d'O pour 1 gramme de matière colorante.

Hoppe-Seyler (1), Dybkowski (2), Preyer (3), Hüfner (4) ont cherché à vérifier ces vues théoriques par l'expérience directe, soit en soumettant à l'action du vide ou de l'oxyde de carbone des solutions titrées d'oxyhémoglobine, et mesurant le volume d'oxygène éliminé, soit en déterminant, au contraire, par voie absorptiométrique, le volume d'oxygène absorbé par des solutions d'hémoglobine de richesse connue. Les expériences les plus exactes, qui sont celles de Hüfner et de ses élèves, ont fourni les résultats suivants : 1 gramme d'hémoglobine, en se transformant en oxyhémoglobine, fixe les quantités d'oxygène suivantes, chez les diverses espèces animales :

Chien.	1cc,58
Porc	1 ,68
Cheval	1 ,83

L'hémoglobine de cheval, qui contient la plus forte proportion de fer (0gr,47 p. 100), fixe aussi, comme on le voit, le plus grand volume d'oxygène. Le volume théorique, calculé comme il a été dit plus haut, est de 1cc,85.

Ces données permettent de calculer la richesse en matière colorante d'un sang dont on a déterminé la capacité respiratoire, c'est-à-dire la quantité maxima d'oxygène fixée après agitation du sang à l'air. Les procédés de dosage de l'oxygène dans le sang ont été étudiés ailleurs. Nous nous contenterons de rappeler ici que le procédé à l'hydrosulfite et l'extraction par la pompe à mercure ne fournissent jamais des résultats concordants. Il se produit, en effet, dans le second cas, par suite de phénomènes d'oxydation, une consommation d'oxygène qui peut atteindre 4 à 6 centimètres cubes de gaz pour 100 centimètres cubes de sang. Cette circonstance rend très incertaine la transformation en poids d'hémoglobine des résultats fournis par la pompe à mercure. Le procédé à l'hydrosulfite est beaucoup plus exact, mais les résultats qu'il fournit ne pourront, en toute sécurité, être traduits en poids d'hémoglobine, que lorsqu'on aura dosé à l'hydrosulfite l'oxygène fixé par des solutions titrées d'hémoglobine et déterminé à nouveau, par ce moyen, les constantes que nous venons de citer.

2. Dosage de l'hémoglobine par le fer.

Les analyses de C. Schmidt (5), Hoppe-Seyler (6), Kossel (7), Bücheler (8),

(1) Hoppe-Seyler, *Med. chem. Untersuch*, Heft II, Tübingen, 1868.
(2) Dybkowski, *Ibid.*, Heft I, 1866.
(3) Preyer, *De hemoglobino observationes*, etc... Diss. Bonn, 1866, p. 19.
(4) Hüfner, *Journ. f. prakt. Chem.*, t. XXII, p. 362. — J. Otto, *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, t. VII, p. 57, 1883. — Hüfner et Bücheler, *Ibid.*, t. VIII, p. 358, 1884.
(5) A. Böttcher, *Ueber Blutkrystalle*. Dorpat, 1862, p. 33.
(6) Hoppe-Seyler, *Med. chem. Unters.* Tübingen, p. 370.
(7) Kossel, *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, t. II, p. 150.
(8) Bücheler, *Beitrage zur Kenntniss d. Pferdeblutfabstoffs. Dissert. inaug.* Tübingen, 1883, p. 13.

montrent que les proportions de fer que renferment les diverses espèces d'hémoglobine sont les suivantes :

Homme	0,42	p. 100 de fer.
Bœuf	0,42	—
Chien	0,43	—
Oie	0,43	—
Cheval	0,47	—
Cobaye	0,48	—

Si donc on admet que tout le fer contenu dans le sang provient de l'hémoglobine et si l'on désigne par f la quantité de fer déterminée dans les cendres de 100 grammes de sang, le poids x d'hémoglobine qui correspond à ce poids de fer sera, s'il s'agit par exemple de sang humain :

$$x=\frac{100}{0,42}f=f\times 238,1.$$

Tel est le principe. Le manuel opératoire proposé par Pelouze est le suivant. On évapore doucement, dans une capsule de platine d'un quart de litre de capacité, une quantité pesée de sang, de 100 à 130 grammes. Le résidu est calciné au rouge sombre pendant deux heures, puis épuisé à chaud par 10 centimètres cubes d'acide chlorhydrique étendus de leur poids d'eau. On ajoute ce liquide par portions, que l'on transporte chaque fois à l'aide d'une pipette sur un petit filtre de Berzélius installé sur un ballon gradué. Chaque épuisement est suivi d'une calcination, et ces opérations sont répétées jusqu'à ce que le charbon ait entièrement disparu. Finalement on calcine le filtre lui-même ; sa cendre est traitée par l'eau acide, et la liqueur claire qui en résulte est jointe directement à celles qui proviennent des opérations précédentes. Cette solution, étendue à 500 centimètres cubes, est additionnée de 10 centimètres cubes d'une solution de sulfite de soude à 10 p. 100, puis chauffée et maintenue à l'ébullition pendant trois à quatre minutes. Le liquide refroidi est étendu au litre, et le sel ferreux qu'il contient est dosé à l'aide du permanganate de potasse.

Il est avantageux d'opérer la calcination du résidu dans un fourneau à moufle de Wiesnegg et de ne pas dépasser le rouge faible. Lorsque la calcination a été faite à une trop haute température ou qu'elle a duré trop longtemps, la dissolution de l'oxyde ferrique est très lente et exige pour être complète toute une journée et même davantage. Il faut se rappeler, en outre, que le dosage du fer par le permanganate n'a toute l'exactitude désirable qu'en solution sulfurique, ainsi que l'a démontré Frésénius (1).

En solution chlorhydrique, le dosage n'est possible qu'en présence de quantités d'acide très faibles et fortement diluées. Pour cette raison, il est préférable de traiter les cendres par de l'acide sulfurique dilué, auquel on ajoute une quantité aussi faible que possible de chlorate de potasse. On chauffe ensuite pendant un temps suffisant pour éliminer tous les produits chlorés, et on procède à la réduction à l'aide de quelques fragments de zinc exempt de fer (2). Il est bon de ne pas

(1) Frésénius, *Traité d'analyse chimique quantitative;* traduction de Forthomme, 4e édition, p. 236.

(2) On évite ainsi l'emploi du bisulfite et l'élimination de l'acide sulfureux qui exige une ébullition assez prolongée.

prendre la solution de permanganate trop étendue, mais telle que 1 centimètre cube corresponde environ à 0gr,002 de fer ; 25 centimètres cubes de la solution sont capables alors de peroxyder le fer d'environ 100 grammes de sang. En se servant d'une burette graduée au 1/20 de centimètre cube, on peut restreindre la prise de sang à 50 grammes, et dissoudre les cendres dans un volume total de liquide de 100 centimètres cubes. On pourra faire ainsi trois ou quatre essais successifs sur 20 ou 25 centimètres cubes chaque fois.

Ce procédé présente le très grave inconvénient d'exiger une trop grande quantité de sang, de nécessiter des manipulations chimiques longues et délicates. En outre, par suite de la faible teneur en fer de l'hémoglobine, les erreurs sont multipliées par le facteur 238. Le plus fort écart que présentent les dosages de Pelouze est de 0gr,0014 de fer pour 100 grammes de sang, ce qui correspond à 0gr,33 d'hémoglobine. Enfin, il est probable que le sérum contient de petites quantités de fer en voie d'élimination, puisque, d'après Magnier (1), l'urine de l'homme à l'état de santé contient de 0gr,01 à 0gr,003 de fer par litre. Ce procédé constitue néanmoins un contrôle utile des autres méthodes.

Nous devons signaler encore, parmi les procédés chimiques, *le procédé décolorimétrique* de M. Quinquaud (2), fondé sur l'action décolorante que l'eau de chlore exerce sur le sang. Cette action est malheureusement variable selon la concentration de l'eau chlorée, la rapidité du dosage, etc... (3).

B. **Méthodes chromométriques.**

Elles sont fondées sur ce principe, vérifié par l'expérience, que si deux solutions examinées dans les mêmes conditions d'épaisseur et d'éclairement présentent la même intensité de coloration, leur richesse en matière colorante est la même. D'une manière plus générale, on peut dire que deux solutions qui, dans les mêmes conditions, présentent un même effet optique déterminé, contiennent des quantités égales de matière colorante.

Ceci posé, il y a deux façons générales d'opérer.

On peut étendre d'eau le sang à examiner jusqu'à ce qu'il soit arrivé à une couleur type, ou en général à un effet optique donné, auquel correspond une richesse connue en matière colorante. Dans cette catégorie rentrent les procédés Hoppe-Seyler, de Worm-Müller, de Jolyet et Laffont, de Bizzozero, de Preyer et Lesser. Ce sont les méthodes à *étalon fixe.*

On pourra, au contraire, étendre le sang d'un volume d'eau toujours le même, et approcher successivement la solution obtenue d'une série d'étalons colorés, jusqu'à ce qu'on en ait trouvé un dont la teinte soit identique à celle de la dilution sanguine. La valeur de chaque degré de l'échelle colorée étant connue, on pourra évaluer ainsi la quantité d'hémoglobine contenue dans le sang. Ce sont les méthodes à *étalon variable.*

Dans cette deuxième catégorie prendront place les procédés de Welcker, Hayem, Quincke, Mantegazza et Malassez.

(1) Magnier, *Ber. d. d. chem. Gesellsch.*, VII, p. 1796.
(2) Quinquaud, *Soc. de Biol.*, 1882.
(3) Lambling, *Des procédés de dosage de l'hémoglobine*, Th. Nancy, 1882, p. 66.

Pour un grand nombre de ces procédés, le point de départ est fourni, soit par une numération des globules (appareils ou procédés de Welker (1), de Hayem (2), de Mantegazza (3), soit par la comparaison avec un sang « normal » (appareil de Worm-Müller (4), de Quincke (5), de Bizzozero (6). Or, il semble bien prouvé aujourd'hui que le globule physiologique n'est pas une unité d'une puissance colorante invariable. Il est également inexact d'admettre qu'à l'état normal la richesse du sang en hémoglobine est assez constante pour que la couleur d'un sang *normal* puisse servir de point de départ dans la graduation d'un appareil chromométrique (7). Tous ces procédés donnent donc, pour ces deux raisons, des résultats incertains, qu'il est impossible de comparer entre eux d'un appareil à l'autre, souvent même, pour un appareil donné, d'un observateur à l'autre (8). Ces procédés doivent donc être écartés. Quant aux autres, nous allons les passer rapidement en revue.

1. Procédé de Hoppe-Seyler (9).

Ce procédé consiste à comparer le sang à analyser avec une solution titrée d'oxyhémoglobine cristallisée, bien pure, préparée à l'aide du sang de chien, d'oie ou, mieux encore, de cheval. Le sang et la liqueur normale sont introduits dans de petites cuves en verre, à faces parallèles, que l'on observe par transparence sur un fond blanc. Il faut pour arriver à l'égalité de teinte ajouter peu à peu de l'eau au liquide sanguin, ce que l'on fait à l'aide d'une burette graduée et en agitant le mélange avec soin. Des volumes égaux des deux solutions sont supposés contenir alors la même quantité d'hémoglobine.

On a déjà été amené à dire précédemment (p. 16) quel est le phénomène d'optique qui rend ce procédé peu sensible. En outre, la solution normale ne se conserve pas pendant plus de huit jours; sa préparation exige beaucoup de temps et ne saurait se faire commodément qu'en hiver. Rajewski (10) a essayé de remédier à cet inconvénient en remplaçant la liqueur normale d'oxyhémoglobine par une solution de picrocarminate d'ammoniaque. Mais cette solution, quoique beaucoup moins altérable, pâlit néanmoins au bout d'un certain temps, ce qui rend nécessaire un nouveau titrage à l'aide d'une liqueur normale d'hémoglobine.

(1) Welker, *Vierteljahrssch. f. d. prakt. Heilkunde*, t. XLIV, 1854.

(2) Hayem, *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1877.

(3) Malassez, *Arch. de physiol.*, 1877.

(4) Voy. *Ibid.*

(5) Quincke, *Arch. f. path. anat.*, t. LIV, 1872.

(6) Bizzozero, *Atti d. R. Acad. d. Scienze di Torino*, 1879.

(7) C'est ce que démontrent surabondamment les dosages de fer exécutés par Becquerel et Rodier chez l'homme sain (voy. Gautier, *Chimie appliquée à la physiologie*, etc., et les dosages d'hémoglobine de Leichtenstern (*Ueber den Hæmoglobulingehalt des Blutes in gesunden u. kranken Zustænden*. Leipzig, 1878).

(8) Voy. Lambling, *loc. cit.*, p. 153 et suiv.

(9) Hoppe-Seyler, *Traité d'analyse chimique appliquée à la physiologie*, etc., traduit par Schlagdenhauffen. Paris, 1877, p. 437.

(10) Rajewski, *Arch. de Pflüger*, 1875, t. XII, p. 73.

2. Procédé de Jolyet et Laffont.

MM. Jolyet et Laffont (1) se servent du *colorimètre* de Laurent Duboscq (fig. 14) Cet appareil se compose de deux godets à fond plat en glace. Un miroir incliné, M, éclaire le fond de ces cuves. Dans chacune d'elles descend un cylindre de verre plein, T, à bases parallèles et polies. En se plaçant au-dessus de ces cylindres et regardant suivant leur axe, on voit le liquide en couche d'autant plus mince et, par suite, d'autant moins colorée que le cylindre est plus enfoncé dans la cuve. Or, cet enfoncement se règle au moyen de vis micrométriques munies d'échelles et de verniers. Si les cuves contiennent des liquides de teintes différentes, il sera possible, en abaissant plus ou moins l'un des tubes, de les rendre égales et de lire, sur l'échelle, l'épaisseur de chaque liquide.

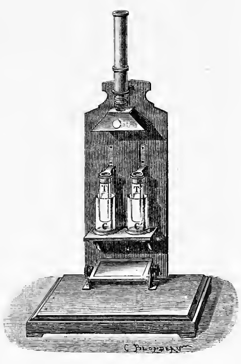


Fig. 14.

Pour faciliter la comparaison des deux surfaces colorées, l'image de chaque cuve est recueillie par un prisme, de telle sorte qu'en regardant dans un oculaire situé au-dessus des prismes, on voit les deux images sous forme de deux demi-cercles exactement contigus. La moindre différence de teinte peut donc être appréciée et corrigée par un mouvement de la vis micrométrique.

Ce dispositif permet d'osciller autour de l'égalité de teinte et de recommencer, à plusieurs reprises, la comparaison des liquides colorés, sans qu'il soit nécessaire de prendre un nouvel échantillon du sang à analyser. De plus, MM. Jolyet et Laffont ont remplacé la solution type d'hémoglobine ou de picrocarminate, toujours altérable, par un verre coloré dont ils déterminent, une fois pour toutes, la valeur en hémoglobine. Cet étalon correspond environ à une épaisseur de 0cm,50 d'un sang de bœuf au 1/25. Il est préférable de choisir un verre d'une coloration moins intense et correspondant à une épaisseur de 0cm,40 à 0cm,50 d'un sang de bœuf défibriné et dilué au 1/40.

Dans ces conditions, les surfaces colorées à observer sont d'un rouge pâle

(1) Jolyet et Laffont, *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1877. — Jolyet, *Médecine expérimentale*, Paris, 1882. — Lambling, *loc. cit.*, p. 75.

légèrement groseille; la moindre variation d'épaisseur de la solution sanguine fait aussitôt apparaître soit une teinte rouge vif, soit la coloration jaune du sang examiné en couche mince. Il est assez difficile de trouver un verre coloré ayant la même qualité de ton qu'une solution sanguine. On arrive, après quelques tâtonnements, à un résultat assez satisfaisant en associant un verre jaune rougeâtre à un autre de couleur légèrement groseille. Ces verres taillés en petits disques sont introduits dans l'un des godets et recouverts d'eau distillée. Avant chaque détermination, on fait plonger dans cette eau le cylindre mobile correspondant, afin que les rayons lumineux traversent de chaque côté des épaisseurs égales de liquides.

Les résultats ne sont exacts qu'à la condition d'opérer toujours dans les mêmes conditions d'éclairement. Les rayons de la source lumineuse qui est une lampe à gaz ou à pétrole, sont tamisés à travers une plaque de verre dépoli, disposé verticalement entre la lampe et le colorimètre. En déplaçant légèrement la lampe, on finit par trouver une position à laquelle correspond un égal éclairement des deux champs. L'appareil est alors *au point*, et les diverses pièces, c'est-à-dire la lampe, la plaque de verre dépoli, le colorimètre et son miroir sont soigneusement immobilisés durant toute la série des mesures.

La valeur en hémoglobine — on devrait dire oxyhémoglobine — de l'étalon coloré est déterminée par comparaison avec des solutions titrées d'oxyhémoglobine cristallisée, bien pure, préparée par exemple avec du sang de chien ou de cheval. A cet effet, on mesure l'épaisseur chromométrique de ces solutions normales, c'est-à-dire l'épaisseur sous laquelle il faut les observer pour que leur intensité de coloration soit la même que celle du verre étalon. Soit h et h' les poids d'hémoglobine pour 100 contenus dans deux solutions titrées, e et e' leurs épaisseurs chromométriques respectives. Comme les richesses en matières colorantes sont en raison inverse des épaisseurs chromométriques, il vient :

$$eh = e'h' \text{ et } h' = \frac{eh}{e'},$$

c'est-à-dire que le produit des épaisseurs chromométriques par les richesses en hémoglobine est constant, et que la richesse en matière colorante d'une solution sanguine donnée est égale au quotient de ce produit constant par l'épaisseur chromométrique de la solution observée. Voici un exemple d'une détermination de ce genre, faite avec l'oxyhémoglobine de sang de cheval (1). Les épaisseurs chromométriques e sont exprimées en dixièmes de millimètres.

h	e	$e \times h$
0gr,4037	30,4	12,272
0 ,3100	41,1	12,741
0 ,3299	36,5	12,041
	Moyenne.	12,351

Un sang (2), qui dilué au 1/40 présente une épaisseur chromométrique égale

(1) Lambling, *loc. cit.*, p. 85.

(2) Le produit constant $e \times h$ fixé à l'aide de l'hémoglobine d'une espèce sanguine peut servir au dosage de la matière colorante du sang d'espèces différentes. Les écarts observés par MM. Jolyet

à e, contiendra dans 100 centimètres cubes un poids h d'hémoglobine égal à :

$$h = \frac{12.351 \times 40}{e}.$$

En diluant le sang au 1/40 (mais non davantage), l'erreur moyenne de chaque résultat est d'environ 2 grammes pour 100 grammes de matière colorante. Un à deux grammes de sang suffisent amplement pour faire plusieurs essais. Si l on rétrécit le godet dans lequel est introduit le liquide coloré, de telle façon que le diamètre soit à peine supérieur à celui du plongeur, la quantité de sang peut être réduite, comme l'a montré Lambling, à environ 0cc,05. La pipette capillaire qui sert à la mensuration du volume du sang doit être jaugée à l'aide du mercure. A ce volume de sang, on ajoute, de façon à arriver au degré voulu de dilution, un volume mesuré d'eau qui doit être légèrement alcalinisée avec de l'ammoniaque ou du carbonate de soude afin de rendre la solution aussi limpide que possible (1). Dans ces conditions, ce procédé devient applicable en clinique, puisqu'une piqûre un peu large, faite à la pulpe d'un doigt, fournit la quantité de sang nécessaire.

Afin d'éviter la préparation des liqueurs titrées d'hémoglobine, on peut fixer la valeur de l'étalon coloré en *volumes d'oxygène*. L'épaisseur colorimétrique d'une dilution sanguine indique alors *la capacité respiratoire* du sang étudié. En effet, l'unité de poids d'hémoglobine fixe à la température et à la pression ordinaire un volume d'oxygène constant; d'autre part, l'expérience démontre que les richesses en hémoglobine sont en raison inverse des épaisseurs colorimétriques. Si donc on détermine par un dosage à l'hydrosulfite ou à l'aide de la pompe à mercure (2) les capacités respiratoires c, c', etc., de divers échantillons de sang, dont les épaisseurs chromométriques sont respectivement e, e', etc., il vient :

$$\frac{e}{e'} = \frac{c'}{c} \quad \text{et,} \quad e\,c = e'c',$$

c'est-à-dire que le produit de la capacité respiratoire par l'épaisseur chromométrique est constant. L'expérience vérifie sensiblement cette proposition, ainsi que l'ont démontré MM. Jolyet et Laffont, et Lambling. Par suite, si l'on détermine une fois pour toutes la valeur du produit ec (de la même manière que l'on a fixé précédemment celle du produit eh), la capacité respiratoire d'un liquide sanguin quelconque pourra être obtenue en divisant ce produit constant par l'épaisseur observée au colorimètre, puisque l'on a :

$$c' = \frac{ec}{e'}.$$

et Laffont (*Gaz. méd.*, 1877, p. 349) rentrent dans la limite des erreurs que comporte le procédé. L'identité du noyau coloré des diverses espèces d'hémoglobines est, du reste, infiniment probable (voy. p. 28 et 169).

(1) Cette précaution est surtout nécessaire avec du sang de leucocythémiques.

(2) Il est indispensable de toujours indiquer par quel procédé la capacité respiratoire a été déterminée, le dosage à l'hydrosulfite donnant des résultats notablement plus forts que l'extraction par la pompe à mercure (voy. p. 157).

On peut ainsi déterminer la capacité respiratoire d'un sang avec une approximation qui est d'environ 2 centimètres cubes pour 100 centimètres cubes de gaz. Ces volumes gazeux peuvent être transformés par le calcul en poids d'hémoglobine (voy. p. 157).

Les procédés chromométriques dont on vient de donner un exemple, comportent tous théoriquement la même cause d'erreur et se heurtent tous au point de vue pratique à la même difficulté. L'objection préjudicielle est la suivante : le sang peut perdre en partie sa capacité respiratoire, tout en conservant sensiblement la même intensité et la même qualité de coloration. Saturé d'oxyde de carbone, par exemple, il devient incapable de fixer de l'oxygène, sans que rien n'indique au colorimètre cette modification si profonde (1). La septicémie, les suppurations prolongées (2), l'intoxication par le nitrite d'amyle (3), le chlorate de potasse (4) abaissent la capacité respiratoire du sang, c'est-à-dire décomposent ou altèrent une partie de l'hémoglobine, et cette modification ne devient sensible au colorimètre que lorsqu'elle est assez prononcée pour changer notablement la teinte de la couleur sanguine.

Les procédés chromométriques ne donnent donc pas la vraie valeur physiologique du sang; ils dosent, non pas l'hémoglobine, mais toute substance contenue dans le sang dont la couleur *se rapproche suffisamment* de celle de l'étalon choisi. Nous touchons ici à la difficulté pratique que présentent tous les procédés. Rien n'est plus difficile que de trouver un étalon coloré dont la qualité de ton ressemble suffisamment à celle du sang vu par transparence. Après un certain nombre d'observations, l'œil, rendu plus exigeant par l'exercice, cesse bientôt d'être satisfait d'un étalon qui dans les premiers essais semblait reproduire parfaitement la couleur du sang. Les résultats sont encore moins bons lorsqu'on essaie d'employer un étalon variable. Des tentatives nombreuses ont été faites dans cette direction, notamment à l'aide du picrocarminate d'ammoniaque, dont la couleur se rapproche beaucoup de celle du sang. C'est sur ce principe qu'est fondé, par exemple, le premier hémochromomètre construit par M. Malassez (5). Dans ce procédé, on compare la couleur de la solution sanguine aux diverses parties d'un prisme contenant une gelée colorée à l'aide du picrocarminate. Mais déjà Rajewski (6) a constaté que deux solutions, l'une de picrocarminate, l'autre d'hémoglobine, présentant absolument la même couleur, subissent des variations de teinte différentes sous l'influence des mêmes variations d'épaisseur. Le même inconvénient subsiste, à un plus haut degré encore, si l'on fait usage d'un prisme à verre coloré (Malassez). E. v. Fleischel (7), qui a construit récemment un nouvel *hémomètre*, fait observer que les différences que présentent dans leur qualité de ton les verres rouges et le sang sont dues

(1) On a déjà vu (p. 29) que la méthode spectrophotométrique, infiniment plus délicate, révèle immédiatement une semblable altération.

(2) Légerot, *Études d'hématologie pathologique*, etc. Thèse. Paris, 1874.

(3) Regnard, *Sur les variations pathologiques des combustions respiratoires*. Thèse, Paris, 1878.

(4) Lambling, Thèse, Nancy, 1882, p. 83.

(5) Malassez, *Arch. de physiol.*, 1877.

(6) Rajewski, *loc. cit.*

(7) E. v. Fleischel, *Med. Jahrb.*, 1885, p. 425, et *Maly's Jahresbericht*, t. XV, p. 149.

à des différences dans l'absorption des parties violettes du spectre. Il faut priver en conséquence de ses rayons violets la source lumineuse employée. Peut-être pourrait-on tirer de cette observation intéressante un meilleur profit que ne l'a fait v. Fleischel, qui se contente d'employer une lumière pauvre en rayons violets (bougie, lampe à huile ou à gaz).

Quoi qu'il en soit, il est préférable de faire usage d'un étalon fixe, et de rendre variable l'épaisseur de la couche sanguine. C'est aussi le principe qu'a adopté M. Malassez (1) dans la construction de deux nouveaux hémochromomètres. Dans l'un de ces appareils, l'épaisseur de la solution sanguine observée est rendue variable par le mouvement d'un prisme contenant cette solution. L'autre appareil est une modification du colorimètre de Laurent. Le godet renfermant la dilution sanguine est rétréci de telle façon que 1 centimètre cube de liquide, contenant 20 millimètres cubes de sang, suffit pour chaque détermination (2). L'étalon coloré est, dans les deux instruments, une couche de picrocarmin, épaisse de 5 millimètres et correspondant à une dilution au 1/100 d'un sang de chien à 5 p. 100 d'hémoglobine. Ces deux appareils sont d'un usage très commode et d'une exactitude suffisante pour des recherches cliniques.

3. Procédés spectroscopiques.

Les procédés chromométriques qu'on vient d'étudier ont une sensibilité limitée à cause d'un phénomène d'optique auquel on a déjà fait allusion; il arrive, en effet, que par suite de la grande quantité de lumière rouge transmise, la variation de l'absorption dans la région verte, où l'intensité lumineuse éprouve l'affaiblissement la plus notable, n'est pas très sensible à l'œil (3). Il semble donc préférable d'observer, comme l'a fait Preyer, la région spectrale comprise entre les raies D et E, où l'absorption varie notablement pour un faible accroissement d'épaisseur de la solution employée.

Le procédé de Preyer (4), modifié par Quincke et Rajewski, consiste à examiner le spectre d'une source lumineuse *constante* d'abord après passage à travers une solution titrée d'hémoglobine, ensuite à travers la solution du sang à analyser, et à déterminer les épaisseurs de chaque solution nécessaires pour faire disparaître l'espace vert intermédiaire aux deux bandes. Les solutions peuvent être introduites soit dans un prisme creux mobile devant la fente (Quincke, Rajewski), soit dans un lactoscope de Donné (Ritter). Ce procédé donne des résultats trop variables, à cause des oscillations de la source lumineuse, et surtout à cause des variations de sensibilité de l'organe visuel, puisqu'on opère successivement sur les deux solutions à comparer. L'erreur moyenne, qui est d'environ 2gr,50 pour 100 grammes d'hémoglobine, peut dans certains cas s'élever jusqu'à 10 p. 100 (5).

Ce procédé spectroscopique, heureusement modifié, semble avoir été repris

(1) Malassez, *Comptes rendus de la Soc. de Biol.*, 1882, p. 627-636.

(2) Voy. p. 163, une modification analogue du colorimètre Laurent.

(3) Voy. p. 16.

(4) Lambling, *loc. cit.*, p. 94. — Voyez aussi : Hennig, *Poggendorf's Ann.*, t. CXLIX, p. 349.

(5) Voyez Branly, *Dosage de l'hémoglobine*, etc., in *Annales de chim. et de phys.*, (5), t. XXVII, p. 241.

avec succès par M. Hénocque dans la construction d'un *hématospectroscope*. Cet instrument se compose essentiellement d'un spectroscope à vision directe associé à un *hématoscope* spécial. Cet hématoscope, employé à part, sert à l'analyse rapide du sang; associé au spectroscope, il permet l'étude des spectres d'absorption du sang, de l'urine, de la bile, etc.

L'*hématoscope* est essentiellement constitué par deux lames de verre de largeurs inégales. Elles sont superposées de façon que, maintenues en contact à l'une de leurs extrémités, elles s'écartent de l'autre d'une distance de 300 millièmes de millimètres, limitant ainsi un espace prismatique capillaire.



Fig. 15. — Hématoscope vu de face, grandeur naturelle.

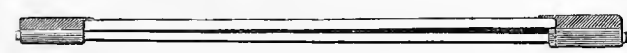


Fig. 16. — Coupe de l'hématoscope.

Lorsqu'on introduit du sang *en nature*, entre deux lames, en en déposant quelques gouttes sur la tranche inférieure, ce liquide pénètre par capillarité et s'étend en une couche dont l'épaisseur varie de gauche à droite entre 0 et 300 millièmes de millimètres ou *micra*. Une échelle graduée en millimètres est gravée sur l'une des lames (lame inférieure). Elle va de 0 à 60 millimètres.

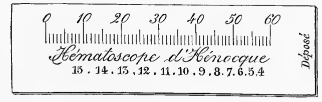


Fig. 17. — Plaque hématoscopique d'émail.

Il en résulte que pour calculer l'épaisseur, en millièmes de millimètres, de la couche sanguine au niveau d'une division de l'échelle, il suffit de multiplier cette division par 5. La capacité de l'espace prismatique étant de 90 millimètres cubes, il faut, en pratique, environ dix gouttes de sang pour bien remplir l'hématoscope. En appliquant l'appareil ainsi garni sur une plaque en émail (fig. 17 et 18) portant une échelle millimétrique, des chiffres et des lettres, il est évident qu'on pourra lire d'autant plus de lettres et de chiffres que le sang sera moins chargé en oxyhémoglobine. Avec du sang d'anémique, on lira par exemple :

En lettres : hématoscope d'Hén...;
En chiffres : 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8;
Et en millimètres, on distinguera de 0 à 43.

L'échelle en chiffres est construite de telle façon que le dernier chiffre, lu distinctement, indique la quantité d'oxyhémoglobine contenue dans 100 grammes de sang. Elle a été établie, dit l'auteur, à la suite de recherches multiples sur le

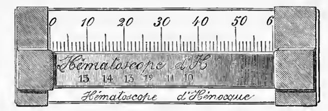


Fig. 18. — Hématoscope superposé à la plaque d'émail.

sang de l'homme et de divers animaux, analysé par des proédés spectroscopiques et chimiques. Bien entendu il faut, avant la lecture, faire coïncider l'échelle millimétrique de la plaque d'émail avec celle de l'appareil. L'examen se fait à la lumière diffuse du grand jour.

Nous voudrions faire remarquer que cet instrument, dont le maniement est fort simple et qui peut certainement donner des renseignements intéressants, mesure en définitif quelque chose d'assez complexe. L'opacité du sang ne dépend pas uniquement de la *richesse* des globules en oxyhémoglobine, mais aussi de leur *nombre*. A la vérité, comme cette opacité tient à une différence de l'indice de réfraction du sérum et des globules, plus est grande la richesse de ceux-ci en matière colorante, plus est grande aussi cette différence d'indice et l'opacité qui en résulte. Cela est d'autant plus vrai que l'hémoglobine forme les 9/10 du poids des globules secs. Mais si l'on supprime par la pensée la matière colorante des globules, on ne supprime pas totalement, du même coup, cette différence d'indice, et l'opacité qui en résulte; le liquide restant n'aurait pas moins, dans une certaine mesure, l'apparence du lait, et son opacité varierait encore avec le volume et surtout le nombre des élements figurés, supposés incolores. Or, il semble prouvé aujourd'hui qu'à une même richesse en matière colorante peuvent correpondre des nombres de globules fort différents, et par suite, peut-être, un degré d'opacité différent. Dans les cas de leucocythémie prononcée, le degré de transparence du sang mesurerait encore moins exactement la richesse en hémoglobine.

En déplaçant l'hématoscope chargé de sang pur devant la fente d'un spectroscope, on pourra observer sous des épaisseurs variables le spectre d'absorption du sang, et constater facilement le mélange d'oxyhémoglobine, la présence de la méthémoglobine, de l'hémoglobine oxycarbonée, etc... Dans ces conditions, l'hématoscope peut servir aussi au *dosage* de l'oxyhémoglobine. M. Hénocque utilise dans ce but *le phénomène de deux bandes également obscures :* « Le sang contenant 14 p. 100 d'hémoglobine, examiné à la lumière du jour sous une épaisseur de 70 millièmes de millimètres, avec un spectroscope à vision directe, et à une distance ne dépassant pas un millimètre, présente les deux bandes caractéristiqués de l'oxyhémoglobine avec une teinte noire également obscure. Ces bandes ont aussi une étendue égale dans le spectre. » Le phénomène

des deux bandes égales sera perçu pour une épaisseur de sang d'autant plus faible, que la richesse en hémoglobine sera plus grande. M. Hénocque a dressé une échelle de concordance qui représente la quantité d'oxyhémoglobine contenue dans le sang sous les diverses épaisseurs auxquelles on observe le phénomène des deux bandes égales (1).



Fig. 19. — Phénomène des deux bandes égales en obscurité et en longueurs d'onde.

Pour des analyses rapides, on se contente de déplacer à la main l'hématoscope devant la fente d'un spectroscope quelconque à vision directe et de noter quelle est l'épaisseur de sang qui se trouve devant la fente au moment où se produit le phénomène des deux bandes égales. La table dressée par M. Hénocque indique ensuite vis-à-vis de l'épaisseur observée le poids d'hémoglobine contenu dans 100 grammes de sang. Pour des essais plus exacts, on se sert de l'hématoscope qui permet de remplacer l'examen rapide à main levée, par des mouvements mécaniques et réguliers, dont l'amplitude peut être appréciée en fraction de millimètres. Le spectroscope est à vision directe et une *échelle spectrométrique* disposée dans un tube latéral permet de lire la largeur des bandes en longueurs d'ondes aussi bien qu'en millimètres. L'hématoscope peut être appliqué aussi à la photographie du sang, à l'examen du lait, etc. Enfin le spectroscope peut être détaché du reste de l'appareil et servir à l'étude spectroscopique du sang à la surface sous-unguéale du pouce. Ce mode d'examen et les résultats qu'il fournit seront étudiés dans la partie théorique de cet ouvrage, en même temps que les phénomènes d'oxydation qui se passent dans nos tissus.

C. **Méthode spectrophotométrique.**

Le dosage de l'oxyhémoglobine par cette méthode exige la fixation préalable du rapport d'absorption A de la matière colorante pour une région spectrale donnée (2). La détermination de cette constante a été entreprise pour la première fois par Hüfner pour l'oxyhémoglobine du sang de chien. Cette opération est fort délicate à cause de la difficulté que l'on éprouve de fixer d'une manière exacte le titre d'une solution d'oxyhémoglobine. Voici le moyen employé par Hüfner et v. Noorden (3). On prépare une solution concentrée d'oxyhémoglobine cristallisée, bien pure, dont on détermine le titre par évaporation. Cette opération a lieu dans un vase de forme spéciale qui permet d'achever la dessiccation du résidu à 112° dans un courant d'hydrogène. La solution titrée ainsi obtenue

(1) L'auteur ne dit pas comment cette graduation a été obtenue, ni comment on peut la contrôler.

(2) Voyez p. 22 l'exposé général de cette méthode.

(3) V. Noorden, *Zeitsch. f. phys. Chem.*, t. IV, p. 1.

est trop concentrée pour pouvoir servir directement à l'analyse. Elle est répartie par portions de 1 à 2 centimètres cubes dans de petits ballonnets tarés et bouchés. On pèse une seconde fois, puis on ajoute de 25 à 35 centimètres cubes d'eau et on reporte sur la balance. On détermine en outre par la méthode du flacon la densité de chacune de ces solutions. A l'aide de ces données, on calcule la concentration de ces solutions, et on mesure au spectrophotomètre le coefficient d'extinction pour la région spectrale choisie. Le rapport d'absorption A est donné chaque fois par la formule

$$A = \frac{c}{\varepsilon}.$$

Si l'on fait plusieurs séries de déterminations de ce genre, chaque série portant sur une nouvelle préparation de matière colorante, on arrive à une valeur moyenne de A, qui est entachée d'une erreur très faible. La région spectrale choisie de préférence est celle qui correspond à la deuxième bande. Elle va de D63E à D84E (1). Hüfner a déterminé en même temps le rapport d'absorption de l'oxyhémoglobine pour la région D32E—D53E, intermédiaire aux deux bandes; on verra tout à l'heure dans quel but. Nous donnons ici, sous forme de tableau, la valeur de ces constantes pour l'oxyhémoglobine cristallisée, bien pure, provenant de différentes espèces animales, A_0 désignant les rapports d'absorption pour la région D32E — D53E, A'_0 ceux qui correspondent à la région D63E — D84E. Dans une troisième colonne figurent les valeurs du quotient $\frac{A_0}{A'_0}$ calculées à l'aide des chiffres des deux premières colonnes. Enfin une quatrième colonne indique les valeurs de ce même quotient déterminé directement sur les solutions sanguines. Ces résultats ont été obtenus avec l'appareil de Hüfner (2).

	A_0	A'_0	$\frac{A_0}{A'_0}$	$\frac{A_0}{A'_0}$ (solut. sanguines)
Chien	0,001330	0,001000	1,330	1,324
Rat	0,001491	0,001105	1,349	1,337
Porc	0,001345	0,001014	1,330	1,327
Cheval	0,001360	0,001031	1,325	1,338

On a suffisamment insisté au cours de l'exposé général de la méthode spectrophotométrique sur la signification si intéressante de ce quotient $\frac{A_0}{A'_0}$. La coïncidence presque absolue que présentent les valeurs de ce quotient dans les deux dernières colonnes, montre que le sang étendu d'eau ne diffère pas optiquement des solutions d'oxyhémoglobine cristallisée et qu'on peut appliquer sans crainte les valeurs de ces constantes au dosage de l'oxyhémoglobine dans le sang en nature (3).

(1) Voyez p. 13.

(2) Ces résultats varient un peu avec l'appareil employé. (Voyez p. 41.)

(3) Voyez p. 28. — La grande similitude des valeurs de A pour les divers espèces animales permet de conclure que les diverses oxyhémoglobines contiennent au moins *un même noyau coloré*.

Le sang possédant une puissance colorante considérable, il est nécessaire de le diluer fortement (au 1/150 ou au 1/200) pour rendre possible l'analyse spectrale. Ces dilutions peuvent être faites en mesurant les liquides à l'aide de pipettes graduées; mais pour des recherches très précises, il vaut mieux opérer par pesées. Si la solution ainsi obtenue absorbe une quantité de lumière trop faible, il est bon de l'examiner sous une épaisseur de 2 ou 3 centimètres. Des mesures photométriques, faites sous deux ou trois épaisseurs différentes, constituent du reste un excellent contrôle de l'exactitude des déterminations. Pour que la solution obtenue soit absolument limpide, il est de règle de l'additionner d'une faible quantité de soude, ou mieux de carbonate de soude sec. Koerniloff et Leichtenstern ont montré que cette addition a pour effet de diminuer légèrement le coefficient d'extinction, c'est-à-dire la quantité de lumière absorbée. La différence, qui est surtout sensible pour des sangs de leucémiques, tient à ce fait que la soude augmente la limpidité du liquide en dissolvant les corpuscules graisseux en suspension. Enfin le dosage de la matière colorante doit se faire à l'état d'oxyhémoglobine; mais il est inutile d'agiter la solution à l'air. L'eau qui a servi à la dilution contient une quantité d'oxygène amplement suffisante pour oxyder toute l'hémoglobine.

Soit $\varepsilon'_0 = 0{,}65758$ le coefficient d'extinction d'un sang de chien dilué au 1/200 pour la région spectrale D63E—D84E; le rapport d'absorption pour cette région étant, pour le sang de chien, égal à 0,001, il vient

$$C = A'_0 \varepsilon'_0 = 0{,}001 \times 0{,}65758.$$

Le liquide observé au spectroscope contenait donc par centimètre cube $0^{gr},00065758$ d'oxyhémoglobine, ce qui fait pour 100 grammes du sang primitif $13^{gr},03$. Il est bon de prendre pour la détermination du coefficient d'extinction la moyenne de plusieurs lectures. Avec le spectrophotomètre de Vierordt, l'erreur moyenne de chaque résultat est d'environ 2 grammes pour 100 grammes de matière colorante, avec celui de Hüfner d'environ $1^{gr},20$ pour 100 grammes. M. Branly arrive avec son appareil à une approximation « qui est, dit-il, supérieure à 1/50 (1). »

Comme la quantité de sang nécessaire à un dosage est très minime (de $0^{cc},03$ à $0^{cc},05$), le procédé est applicable aux recherches cliniques, comme le démontrent les nombreuses analyses de Wiskemann (2), de Leichtenstern (3), de Branly et Quinquaud (4), de J. Otto (5).

Le dosage simultané de l'hémoglobine et de l'oxyhémoglobine peut être effectué par cette méthode, à la condition que l'on ait déterminé d'avance dans deux régions spectrales les rapports d'absorption des deux matières colorantes. Il suffit alors de prendre les coefficients d'extinction du liquide sanguin dans

(1) Voyez p. 39.

(2) Wiskemann, *Zeitsch. f. Biol.*, t. XII, 1876.

(3) Leichtenstern, *Ueber den Hämoglobulingehalt des Blutes*, etc., Leipzig, 1878. — Voyez aussi : Kœrniloff, *Zeitsch. f. Biol.*, t. XII, 1876.

(4) Quinquaud et Branly, *Arch. génér. de méd.*, [VII], X, p. 129.

(5) J. Otto, *Arch. de Pflüger*, t. XXXVI, 1885, p. 12.

les deux régions et d'appliquer la formule qui a été établie page 26. Voici comment opère Hüfner :

Le sang est aspiré directement de la veine dans une seringue, puis introduit dans un tube rempli de mercure et défibriné à l'abri de l'air par l'agitation. Un volume connu de ce liquide doit être dilué ensuite avec de l'eau exempte d'oxygène, afin de pouvoir servir à l'examen photométrique, puis porté au spectroscope à l'abri du contact de l'air. Il serait trop long de décrire ici tous les détails d'une semblable opération (1). Contentons-nous de dire qu'on se sert d'un appareil à boule de forme spéciale (fig. 20). L'espace n est rempli d'eau purgée d'air; le volume m compris entre les deux robinets reçoit, au contraire, le sang défibriné. Toutes ces manœuvres se font à l'abri de l'air. En ouvrant le robinet b, on opère le mélange des deux liquides (2), puis on vide l'espace m et on le balaye d'un courant d'hydrogène qui entre en f et sort en β; un deuxième courant pénètre en δ et sort en g. En outre l'hydrogène, au sortir de β, passe dans une cuve de Schultz, de forme spéciale, qui peut être hermétiquement close et dont on chasse ainsi tout l'air atmosphérique. Lorsqu'on juge que toutes les voies sont privées d'oxygène, on donne aux robinets une position convenable et on fait passer le liquide dans la cuve qui est ensuite portée au spectroscope. Il ne reste plus alors qu'à déterminer les coefficients d'extinction dans deux régions spectrales.

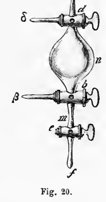


Fig. 20.

Les volumes m et n ont été exactement jaugés à l'aide du mercure, ce qui fait qu'on connaît le degré de dilution qu'a subi le sang. Désignons par :

A_0 et A'_0 les rapports d'absorption de l'oxyhémoglobine dans les deux régions spectrales.

A_r et A'_r ceux de l'hémoglobine dans les mêmes régions.

E et E', les coefficients d'extinction du liquide sanguin.

v, le volume $m+n$.

Les poids d'hémoglobine h_r et d'oxyhémoglobine h_0 pour 100 centimètres cubes de sang seront donnés par les formules suivantes :

$$h_r = \frac{v \times 100}{m} \cdot \frac{A_r A'_r (E' A'_0 - E A_0)}{A'_0 A_r - A_0 A'_r},$$

$$h_0 = \frac{v \times 100}{m} \cdot \frac{A_0 A'_0 (E A_r - E' A'_r)}{A'_0 A_r - A_0 A'_r}.$$

Ce double dosage peut être contrôlé facilement en agitant à l'air le liquide sanguin, de façon à oxyder toute la matière colorante, et déterminant au spec-

(1) Hüfner, *Zeitsch. f. physiol. Chem.*, t. III, p. 1. — J. Otto, *Arch. de Pflüger*, t. XXXVI, 1885, p. 12.

(2) On pouvait craindre que, par suite de cette dilution du sang dans une grande masse d'eau privée d'oxygène, une partie de l'oxyhémoglobine ne subît une dissociation en oxygène et en hémoglobine. Hüfner s'est assuré par des essais directs qu'il n'en est rien. (*Zeitsch. f. physiol. Chem.*, t. X, p. 218.)

trophotomètre la richesse H_0 en oxyhémoglobine. On devra trouver évidemment :

$$H_0 = h_0 + h_r.$$

Les valeurs de A_r, A'_r préalablement déterminées par Hüfner sont :

$$A_r = 0,001091$$
$$A'_r = 0,001351.$$

Le volume m qui est de 1 à 2 centimètres cubes doit être de 150 à 200 fois plus petit que le volume n. Hüfner trouvait ainsi dans une série d'expériences :

$h_0 + h_r$	H_0
17gr,11	17gr,20
17 ,43	17 ,83
16 ,39	16 ,41
15 ,32	15 ,29

L'accord est remarquable. L'exactitude de cette double détermination a été vérifiée par Lambling. On peut donc à l'aide du spectrophotomètre, par un procédé à coup sûr délicat mais fidèle, suivre dans leur transformation réciproque les deux matières colorantes du sang et se faire ainsi une idée de l'intensité relative des phénomènes d'oxydation dans les divers territoires sanguins.

Hüfner et ses élèves ont également appliqué cette méthode à des études qualitatives et quantitatives sur la méthémoglobine, l'hémoglobine oxycarbonique, etc... (1).

§ II. — ANALYSE DU SÉRUM SANGUIN.

Cette analyse a pour but de déterminer les quantités de matières albuminoïdes, de matières extractives, de matières grasses et de sels que renferme le sérum. La meilleure méthode pour atteindre ce but est encore celle de Hoppe-Seyler (1), applicable également à toutes les sérosités; c'est elle qui doit être employée dans les opérations (a) et (c) du deuxième procédé de dosage des globules humides du même auteur.

On traite 20 à 30 centimètres cubes de liquide exactement mesuré (sang, sérum, plasma, etc.) par trois ou quatre volumes d'alcool à froid. On laisse reposer quelques heures; on jette sur un filtre lavé; on lave à l'alcool ordinaire, à l'alcool absolu (a), à l'éther alcoolisé (b), puis à l'eau chaude (c). Après ces épuisements, le filtre ne retient plus que les matières albuminoïdes coagulées, y compris les globules sanguins dans le cas du sang, et les sels insolubles. Cependant l'alcool de lavage entraîne un peu d'albumine que l'on retrouve plus loin.

Le coagulum albumineux, retenu sur le filtre, est de nouveau lavé à l'alcool pour enlever complètement l'eau dont il est imprégné, desséché à l'étuve ; à 120° et enfin pesé après refroidissement sous la cloche à acide sulfurique. On l'incinère ensuite au moufle à gaz dans un petit creuset de porcelaine et l'on détermine ainsi le poids des sels insolubles dans l'eau. Ce poids, défalqué de celui

(1) Voyez *Jahresbericht de Maly*, 1882-1886.

du contenu du filtre, donne le poids des matières azotées du sang : fibrine, hémoglobine et matières albuminoïdes du sérum.

On reprend ensuite les divers liquides de lavage de la manière suivante :

L'extrait alcoolique (*a*) est évaporé à sec, et le résidu mis en digestion avec (*b*). La partie insoluble recueillie sur un petit filtre est lavée avec un peu d'alcool absolu, puis avec (*c*) et enfin avec un peu d'eau. On obtient ainsi une nouvelle solution alcoolico-éthérée (*b'*), et une solution aqueuse (*c'*).

Quant au résidu insoluble resté sur filtre, on le traite comme le premier précipité albumineux, et l'on ajoute le poids de matières organiques qu'il renferme au poids B des matières azotées du sang, et celui du résidu de la calcination au poids des cendres de la première opération représentant les *sels insolubles dans l'eau*.

La solution aqueuse (*c* + *c'*) renferme les sels solubles dans l'eau et insolubles dans l'alcool et l'éther. On l'évapore, puis on dessèche le résidu à 110-115° et l'on pèse; en incinérant le résidu, on obtient les *sels minéraux solubles*.

La solution alcoolico-éthérée (*b'*) renferme de l'urée, du sucre, un peu de chlorure de sodium, de la cholestérine, de la lécithine et des corps gras. On l'évapore au-dessous de 70° ou même dans le vide; on épuise le résidu par l'éther, on le jette sur un filtre et on lave encore avec de l'éther. On obtient ainsi un nouveau résidu insoluble dans l'éther (*e*), et une solution (*d*).

Le résidu (*e*) insoluble dans l'éther est détaché du filtre à l'aide d'une pissette, recueilli dans une petite capsule, évaporé et desséché à 100 puis à 110° et enfin pesé. On incinère ensuite le résidu et l'on pèse les cendres dont le poids ajouté à celui du résidu de l'extrait aqueux (*c* + *c'*) représente les *sels solubles*.

La solution éthérée (*d*) qui renferme les matières grasses, la cholestérine et la lécithine est évaporée et le résidu desséché puis pesé.

1. DOSAGE DE L'EAU ET DES MATIÈRES FIXES.

Dans une petite capsule de platine, à fond plat, on introduit de 10 à 30 centimètres cubes de sérum, on recouvre d'une lame de verre et l'on pèse; on évapore pendant six heures au bain-marie, puis pendant quelques jours à l'étuve à 100°, ou mieux dans le vide, en présence d'acide sulfurique ou d'anhydride phosphorique. On chauffe ensuite à l'étuve à 110-120°, et l'on pèse après refroidissement, en recommençant la chauffe et la pesée jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de différence entre deux pesées successives. On obtient ainsi la quantité de matières fixes contenues dans le volume de liquide évaporé et l'on rapporte les résultats à 100.

On dosera les sels fixes en suivant la méthode décrite dans l'étude des sérosités.

2. DOSAGE DE LA LÉCITHINE, DE LA CHOLESTÉRINE ET DES CORPS GRAS DU SÉRUM ET DES GLOBULES (Hoppe-Seyler) (1).

Ces composés se trouvent dans l'extrait éthéré (*d*) obtenu en épuisant par l'éther le résidu de l'extrait alcoolique de sérum), des globules sanguins ou du

(1) Hoppe-Seyler, *loc. cit.*, p. 424.

sang tout entier. Nous avons vu, dans les généralités, que les globules sanguins ne renfermaient pas de corps gras.

L'extrait obtenu par l'évaporation de la solution éthérée, est desséché complètement, puis pesé. On le reprend par l'alcool, on y ajoute de la potasse en solution alcoolique et l'on chauffe le mélange au bain-marie jusqu'à évaporation complète de l'alcool. Le résidu, constitué par un mélange de cholestérine avec les produits de la saponification des corps gras et de la lécithine tels que savons, glycérine, neurine, phosphoglycérate et excès de potasse, est repris par de l'eau mélangée à son volume d'éther. On décante l'éther que l'on remplace par de l'éther nouveau et l'on continue l'épuisement à plusieurs reprises. La solution éthérée laisse par évaporation la cholestérine mélangée à un peu de savons qui restent insolubles, après un nouveau traitement à l'éther exempt d'eau et d'alcool. Cette dernière solution laisse, après distillation, la cholestérine pure que l'on pèse.

La solution aqueuse alcaline, additionnée d'un excès de nitre pur, est évaporée à sec, puis calcinée dans un creuset d'argent. Le résidu, repris par l'eau, lui cède le phosphate de potassium, formé aux dépens de l'acide phosphoglycérique. On dose l'acide phosphorique dans cette solution, en la traitant par un excès d'acide azotique, évaporant au bain-marie, puis additionnant de molybdate ammonique et abandonnant au repos pendant 12 heures. Le précipité de phosphomolybdate ammonique, redissout dans l'ammoniaque étendue, fournit un liquide que l'on traite par la mixture magnésienne. Au bout de 12 heures, on recueille le précipité de phosphate ammoniaco-magnésien et on le pèse à l'état de pyrophosphate de magnésie.

Calcul des résultats. — L'analyse de l'extrait éthéré nous donne : 1° le poids des corps solides, 2° celui de la cholestérine et 3° le poids du pyrophosphate de magnésie. Ce dernier, multiplié par le coefficient 7,2748, fournit le poids correspondant de la lécithine dont il provient. Il suffit donc de retrancher du poids de l'extrait éthéré la somme des poids de la cholestérine et de la lécithine pour obtenir celui des corps gras, en supposant qu'il n'existe dans la liqueur primitive ni acides gras libres, ni pigments, solubles dans l'éther en quantité appréciable.

On rapporte ensuite tous les nombres obtenus à 100 de matière première mise en œuvre.

3. DOSAGE DE LA GLUCOSE DANS LE SANG (Cl. Bernard) (1).

On aspire avec une seringue en verre, ou bien l'on reçoit dans une capsule de porcelaine, au sortir de la veine, de 10 à 25 grammes de sang. On y ajoute un poids égal de cristaux de sulfate de soude non effleuri et quelques gouttes d'acide acétique, puis on fait bouillir. Il se forme un coagulum d'abord rutilant, puis noir et spongieux; à ce moment, on ajoute de l'eau pour ramener au poids primitif, on exprime à chaud, puis on dose le sucre dans le liquide filtré à l'aide de la liqueur de Barreswil.

(1) Cl. Bernard, *Comptes rendus*, t. LXXXII, p. 1376, 1876.

4. DOSAGE DE L'URÉE DANS LE SANG ET LE SÉRUM.

L'urée se trouve dans le résidu insoluble dans l'éther (*e*) de la solution alcoolico-éthérée (*b'*), obtenu dans l'analyse du sérum (p. 172). Ce résidu est redissout dans l'eau et traité par la liqueur mercurique de Liebig (après neutralisation préalable du liquide par le carbonate de soude) qui précipite l'urée, ainsi que d'autres substances et particulièrement la créatine et la créatinine. Le précipité lavé est mis en suspension dans l'eau, puis décomposé par un courant d'hydrogène sulfuré. Le liquide filtré incolore renferme l'urée qu'on dose au moyen de l'hypobromite de soude.

Dans certains cas l'opération peut être simplifiée. On fait simplement un extrait alcoolique du produit soumis à l'analyse; on évapore à siccité et l'on reprend par de l'alcool absolu à froid. L'extrait alcoolique évaporé, redissout dans l'eau est traité par le sous-acétate de plomb. On filtre et l'on élimine l'excès de plomb par un courant d'hydrogène sulfuré ou par du sulfure d'ammonium. On filtre de nouveau pour séparer le sulfure de plomb ; on concentre le liquide au bain-marie, puis on y dose l'urée par l'hypobromite.

5. RECHERCHE DE L'INOSITE DANS LE SÉRUM.

On élimine les matières albuminoïdes par la coction en présence d'un peu d'acide acétique (voir *Urines*, p. 99); on filtre, puis on précipite successivement par l'acétate et le sous-acétate de plomb. On recueille les précipités sur filtres séparés (*a*) et (*b*) et l'on conserve le liquide filtré (*c*).

Le précipité fourni par le sous-acétate de plomb (*b*) qui renferme l'inosite, est lavé à l'eau, délayé dans l'eau et décomposé par l'hydrogène sulfuré. Le liquide filtré est évaporé à consistance sirupeuse, puis traité par l'alcool, en observant les précautions indiquées dans le chapitre des urines pour l'extraction et le dosage de l'inosite (p. 100).

6. RECHERCHE DES ACIDES BILIAIRES.

On traite le sérum par l'acétate et le sous-acétate de plomb. Les précipités plombiques lavés sont ensuite soumis aux diverses opérations décrites à propos de la recherche de ces mêmes composés dans les urines (p. 123).

7. RECHERCHE DE LA LEUCINE, DE LA TYROSINE, DE LA CRÉATINE ET DE LA CRÉATININE (Ritter) (1).

Les liquides, séparés des précipités plombiques, provenant des opérations précédentes (*c*), sont débarrassés de l'excès de plomb par l'hydrogène sulfuré, filtrés, puis concentrés fortement à consistance sirupeuse et épuisés par l'alcool.

(1) Ritter, *Manuel de chimie pratique*, p. 337.

La partie insoluble retient la majeure partie de la *tyrosine*, dont on recherche la présence d'après ses réactions caractéristiques (p. 127). L'extrait alcoolique évaporé, repris par l'eau et traité par l'acétate de plomb ammoniacal, laisse se précipiter la combinaison insoluble de leucine et d'oxyde de plomb qu'on lave avec un peu d'eau et qu'on décompose par l'hydrogène sulfuré. Le liquide filtré, concentré par évaporation, abandonne par le refroidissement de la *leucine* dans un état de pureté suffisant pour être caractérisée (p. 127).

Les eaux mères du précipité plombique de leucine provenant de l'extrait alcoolique, sont traitées par l'hydrogène sulfuré, refiltrées et concentrées. La *créatine* cristallise et l'on peut séparer la créatinine des nouvelles eaux mères par le chlorure de zinc.

Remarques. — Les deux composés leucine et tyrosine se retrouvent généralement ensemble et n'apparaissent guère dans le sérum et les sérosités diverses que dans les cas de ramollissement du foie.

Les sérosités normales ne renferment probablement que la créatine qui augmente dans certains cas pathologiques tels que le typhus; la créatinine qu'on a pu extraire de quelques liquides séreux se forme très probablement par déshydratation aux dépens de la créatine, pendant le cours des opérations.

8. RECHERCHE DE L'ACIDE URIQUE.

L'acide urique n'existe qu'en très minime quantité dans le sang normal, mais sa proportion augmente notablement dans le cas d'arthritisme.

Pour le rechercher on suit le procédé de Garrod qui consiste à placer 6 à 8 grammes de sérum dans un vase à fond plat, de 8 centimètres environ de diamètre, et à les mélanger avec quatre à six gouttes d'acide acétique étendu et à plonger un fil de lin dans le liquide qu'on abandonne dans un endroit assez chaud pour que les érum s'évapore lentement. On retire le fil, on l'examine au microscope et on le soumet aux réactions de la murexide (p. 142).

Quand le sérum ne renferme que des traces d'acide urique, le procédé Garrod ne donne plus aucun résultat. On étend alors une notable quantité de sérum de trois volumes d'eau et l'on précipite l'albumine par la coction (p. 86). Le liquide filtré, évaporé à sec est repris à plusieurs reprises par de l'eau bouillante. Les solutions concentrées sont acidulées par de l'acide acétique et abandonnées au frais; après 12 ou 24 heures de repos, on obtient des cristaux d'acide urique qu'on examine au microscope et qu'on traite par l'acide azotique et l'ammoniaque. On peut, au préalable, recueillir le précipité cristallin sur un filtre taré et le peser.

9. RECHERCHE DE L'AMMONIAQUE.

On constate facilement la présence de l'ammoniaque dans le sang en l'abandonnant pendant 6 à 8 heures dans un vase à fond plat, à bord rodé et fermé par une plaque de verre, sous laquelle on a fixé, avec de la cire, un verre de montre mouillé avec un peu d'acide sulfurique. On examine ensuite l'acide avec le réactif de Nessler. Brücke a toujours trouvé des traces appréciables d'ammo-

niaque dans le sang, dans l'urine, la salive, etc., à l'aide de ce procédé ; mais il ne faut pas oublier que cette ammoniaque pourrait provenir de la décomposition putride de ces liquides.

On peut aussi faire passer à travers le sang, d'abord à froid, puis chauffé au bain-marie, un courant d'hydrogène lavé au nitrate d'argent, et faire passer le gaz dans une solution de réactif de Nessler. Les auteurs de ce procédé, MM. Kühne et Strauch (1) n'ont pu constater par ce moyen la présence de l'ammoniaque dans le sang chauffé à 40°, bien que la sensibilité de la réaction fut de 1/100.000. Entre 68 et 70° les résultats ont toujours été positifs, mais on peut les attribuer à une décomposition des matières albuminoïdes au moment de leur coagulation.

Comme l'altération du sang est très rapide et que la décomposition de l'hémoglobine donne toujours des produits acides qui peuvent fixer de petites quantités d'ammoniaque, Ritter (2) conseille de neutraliser au préalable le sang par un peu de magnésie.

10. RECHERCHE DE L'ACIDE LACTIQUE.

Le sérum débarrassé des matières albuminoïdes par la coction, ainsi que des sulfates et des phosphates par l'eau de baryte, est évaporé, puis soumis à la distillation après addition préalable d'acide sulfurique étendu.

Le liquide distillé peut être consacré à la recherche des acides volatils de la série acétique (3).

Le résidu de la cornue est repris par l'alcool fort. On décante la solution alcoolique claire, on chasse l'alcool par évaporation, on concentre et l'on additionne un lait de chaux. Après avoir fait bouillir le liquide filtré pour en séparer le sulfate de chaux et traité par un courant d'acide carbonique, pour éliminer l'excès de chaux, on l'évapore à consistance de sirop. Le résidu est repris par l'alcool bouillant, et le liquide filtré, mélangé après refroidissement avec un peu d'éther, abandonne des cristaux de lactate de chaux, reconnaissables au microscope sous forme d'aiguilles fines radiées.

L'acide éthyléno-lactique se distingue de l'acide sarco-lactique par l'action de l'alcool sur le sel de zinc, obtenu par double décomposition au moyen du sel de chaux et le sulfate de zinc. La solution obtenue, évaporée à sec, est reprise par l'alcool qui dissout le sarco-lactate et non l'éthyléno-lactate.

On peut simplifier le procédé indiqué précédemment de la manière suivante : le résidu de la distillation avec l'acide sulfurique est épuisé à plusieurs reprises par agitation avec de l'éther. Les solutions éthérées qui contiennent l'acide lactique sont évaporées; le résidu est repris par de l'eau et saturé par de l'oxyde de plomb. On évapore à sec et l'on reprend par l'alcool étendu qui dissout le lactate. La solution est décomposée par l'hydrogène sulfuré, filtrée, évaporée, et neutralisée alors par le carbonate de zinc qui donne du lactate de zinc.

(1) Kühne et Strauch, *Med. Centralblatt.*, 1864, nos 36 et 37.
(2) Ritter, *loc. cit.*, p. 339.
(1) Voir, à ce sujet, Hoppe-Seyler, *loc. cit.*, p. 91.

11. RECHERCHE ET SÉPARATION DES ACIDES GRAS VOLATILS DU SANG.

Les acides formique, acétique, propionique, etc., peuvent être séparés des liquides qui les renferment (urine, sueur, etc.) par simple distillation avec de l'acide sulfurique étendu. Mais il peut se produire en même temps d'autres acides gras, par suite de l'action du réactif sur les divers éléments et en particulier sur les sels du liquide analysé.

Dans le cas des liquides séreux, on doit éliminer toutes les matières albuminoïdes qui pourraient être décomposées en partie par la distillation. Pour cela, on ajoute au liquide trois volumes d'alcool à 90°, on agite et l'on sépare par filtration le précipité formé. Le filtratum, saturé de carbonate de soude, est distillé pour en retirer l'alcool, et le résidu évaporé au bain-marie est distillé en présence d'acide sulfurique dilué. Ce procédé est également applicable à la recherche des acides gras volatils contenus dans les fèces.

Dans le cas du sang, ou d'organes riches en sang, il faut encore éliminer les matières albuminoïdes et le pigment sanguin dont les produits de décomposition volatils pourraient également vicier les résultats. Le meilleur procédé à employer consiste à ajouter au sang, ou aux organes riches en sang, coupés en menus morceaux, de l'alcool froid, de battre et de mélanger fortement, de filtrer à froid et de traiter le liquide alcoolique comme précédemment.

La distillation au contact de l'acide sulfurique doit être poussée jusqu'à empâtement du résidu de la cornue; si le produit qui passe en ce moment à la distillation sent encore fortement les acides gras, on ajoute de l'eau dans la cornue et l'on continue la distillation.

Le produit de la distillation peut contenir des acides gras volatils depuis l'acide formique jusqu'à l'acide caprique; il ne renferme que des traces des acides supérieurs. On procède à la séparation de ces divers composés d'après les méthodes suivantes indiquées par Hoppe-Seyler (1).

On commence par chasser l'excès d'eau en saturant le liquide de carbonate de sodium, évaporant à siccité et épuisant par l'alcool. La solution alcoolique évaporée laisse un résidu qu'on redissout dans une petite quantité d'eau.

1) *Recherche de l'acide formique.* — Une minime partie de la solution aqueuse est traitée par l'acide sulfurique dilué et quelques gouttes de nitrate d'argent, puis chauffée; en présence de l'acide formique, il se produit un précipité ou un dépôt métallique d'argent.

2) *Recherche de l'acide acétique.* — Une coloration rouge, produite dans le liquide primitif par l'addition de quelques gouttes de chlorure ferrique, indique l'acide acétique en l'absence d'acide formique. Si le liquide renferme ce dernier composé, on l'élimine en faisant bouillir la liqueur primitive avec de l'acide sulfurique dilué et de l'oxyde de mercure (formiate mercurique insoluble), saturant par du carbonate de chaux, filtrant et traitant par le perchlorure de fer.

3) Le restant du liquide primitif est traité par de l'acide sulfurique dilué; au bout de quelque temps, il se forme à la surface des gouttelettes huileuses ou une masse floconneuse d'acide caprique, caproïque, caprylique; on ajoute un peu

(1) Hoppe-Seyler, *Analyse chimique*, trad. française, 1877, p. 92.

d'eau pour redissoudre l'acide valérianique rendu insoluble par la présence d'autres acides, puis on sépare les gouttelettes huileuses par la pipette ou par la filtration sur un filtre mouillé.

4) Le filtratum obtenu d'après (3) est soumis à la distillation, et le liquide distillé est traité par le chlorure de calcium sec. S'il se forme des gouttelettes huileuses, elles proviennent des acides propionique, butyrique, valérique et caproïque. On ajoute de l'éther, on décante et l'on traite la solution éthérée par de l'eau de baryte. On élimine l'excès de baryte de la solution aqueuse par un courant d'acide carbonique et l'on évapore au bain-marie. Le résidu, repris par l'eau chaude, est filtré pour éliminer le carbonate de baryum et le liquide est abandonné à la cristallisation fractionnée, pour caractériser chacun des acides précédents d'après les propriétés de leur dérivé barytique, en suivant la méthode décrite page 277.

5) La solution chlorurée calcique (4) débarrassée des acides propionique, butyrique, etc., est soumise à la distillation. Le produit distillé peut renfermer les acides formique et acétique et des traces d'acide propionique. On sépare les deux premiers à l'aide de l'oxyde de mercure, comme il est dit en (2).

6) Les gouttes huileuses ou flocons obtenus en (3) sont dissous dans l'éther. Le liquide éthéré est agité avec un excès d'eau de baryte, et la couche aqueuse décantée est traitée par un courant d'acide carbonique jusqu'à cessation de réaction alcaline. On ajoute de l'eau, on fait bouillir, et l'on filtre à chaud. On concentre au bain-marie et on laisse reposer. Le caprate de baryum cristallise en premier lieu; on lave à l'eau froide et l'on concentre le liquide. Au bout d'un certain temps, il se dépose du caprylate de baryum; enfin la concentration des eaux mères donne le caproate. La nature des sels obtenus et leur degré de pureté sont vérifiés par leur degré de solubilité dans l'eau, constant pour chacun d'eux, et par la quantité de baryum qu'ils renferment.

De toutes les réactions indiquées précédemment, la moins sûre est celle de l'acide acétique. Aussi sa présence dans l'organisme n'est-elle rien moins que certaine, bien qu'on ait trouvé et caractérisé nettement ce composé dans le gros intestin.

L'analyse des urines a révélé quelquefois de l'acide benzoïque parmi les produits distillés. Ce résultat n'est pas sans intérêt surtout quand on s'occupe de la recherche des acides caproïque, caprylique et caprique.

12. RECHERCHE ET DOSAGE DES MATIÈRES ALBUMINOÏDES DU SÉRUM.

Les procédés d'analyse qualitative et quantitative sont les mêmes que ceux qui sont employés pour les sérosités (p. 192) et pour les urines (p. 92).

13. RECHERCHE DES MATIÈRES COLORANTES ANORMALES DU SÉRUM.

La recherche de la matière colorante jaune du sérum sanguin, et des liquides séreux, probablement identique à la lutéine, ne présente aucun intérêt. Il en est autrement des pigments biliaires, de l'hémoglobine et de la méthémoglobine

et de l'urobiline pour lesquels on applique les méthodes décrites au chapitre des urines (p. 96-114).

Les liquides séreux prennent souvent, par suite de leur abandon au contact de l'air, une teinte verdâtre dont on ignore l'origine.

§ III. — ANALYSE DES GAZ DU SANG.

Le sang contient de l'oxygène, de l'acide carbonique et de l'azote.

Ce dernier, le moins important, y est tenu en dissolution physique.

L'oxygène se trouve en majeure partie combiné à l'hémoglobine; une minime quantité seulement est dissoute dans le sérum.

La gaz carbonique se trouve également en dissolution physique, et partiellement à l'état de combinaison avec les carbonates et les phosphates alcalins (Fernet); il en résulte que le vide seul est capable d'extraire complètement ces gaz. Cette opération très délicate exige de nombreuses précautions pour être aussi parfaite que possible.

1. HISTORIQUE DES PROCÉDÉS D'EXTRACTION.

En traitant le sang par la chaleur, Davy, le premier, réussit, en 1799, à extraire un peu d'oxygène du sang artériel et d'acide carbonique du sang veineux. Après lui, d'autres savants s'occupèrent du même sujet, mais avec des résultats très discutés. Il faut arriver jusqu'en 1837 pour voir Magnus extraire les gaz du sang par deux procédés nouveaux, soit en les déplaçant par un courant de gaz inerte, l'hydrogène par exemple, soit en mettant le flacon contenant le sang en communication avec un ballon vide d'air.

La première méthode est aujourd'hui abandonnée, à cause de la perte considérable en oxygène, par suite des phénomènes d'oxydation qui se produisent pendant la trop longue durée de l'opération; elle est remplacée par celle du vide, dont les résultats, encore très inexacts entre les mains de son auteur, sont devenus plus précis entre celles de L. Meyer (1857). Ce dernier faisait passer le sang dans dix ou vingt fois son volume d'eau bouillie et portait le mélange à 40 degrés, tout en le soumettant à l'action du vide. Il obtenait ainsi de l'oxygène et de l'acide carbonique. Le restant de ce dernier gaz était chassé de sa combinaison avec les alcalis par l'addition d'acide tartrique, toujours dans le vide. Les nombres trouvés étaient encore entachés d'une erreur très sensible provenant de l'imperfection du vide employé; en sorte que la proportion d'acide carbonique, expulsé par le vide, était trop forte et inversement, la partie du gaz considéré comme combiné aux alcalis, trop considérable.

C'est à partir de cette époque que Ludwig eut recours au vide barométrique obtenu au moyen d'une pompe construite d'après les indications de ses élèves Setschenow et Schöffer et modifiée, depuis lors, de diverses façons par Helmoltz, Pflüger, Geissler, Gréhant et Gautier.

2. PROCÉDÉ DE LA POMPE A MERCURE.

L'appareil employé en France et qui se trouve aujourd'hui dans tous les laboratoires, est la pompe à mercure construite par Alvergniat (1).

Elle se compose d'un tube de verre épais, avec chambre barométrique supérieure d'un demi-litre environ, relié à la cuvette mobile du baromètre par un long tube en caoutchouc permettant le relèvement de cette dernière et par suite le remplissage complet de la chambre avec du mercure. Le mouvement de la cuvette mobile s'effectue facilement le long d'une glissière verticale à l'aide d'une manivelle.

La chambre barométrique communique par un robinet à trois voies, soit avec l'extérieur, par une petite cuvette à mercure placée au-dessus, soit par un tube latéral dont l'extrémité libre doit être inclinée sur l'horizon avec des ballons ou des appareils quelconques reliés au tube de verre par un tube en caoutchouc épais. Entre ce tube latéral et les ballons dans lesquels on fera le vide, on peut intercaler des appareils destinés à dessécher les gaz et contenant soit de l'acide sulfurique (grosse pompe), soit de la ponce ou des boules de verre, imprégnées d'acide sulfurique (tubes en U de Wurtz), de façon à obtenir le vide sec, d après les indications de Pflüger. Le joint du robinet doit être entouré d'une petite cuvette remplie d'eau pour assurer une fermeture hermétique.

Le récipient dans lequel on introduit le sang varie de forme suivant les expérimentateurs. On s'est servi d'abord de simples tubes droits, fermés à un bout (Hoppe-Seyler), puis de tubes renflés à leur extrémité inférieure en une boule volumineuse (Geissler-Pflüger). Le col de ces appareils doit être entouré d'un manchon, parcouru par un courant d'eau froide, pour faire tomber la mousse qui monte très abondamment pendant l'extraction des gaz (2).

L'appareil de M. Gautier (3) est plus commode, d'un volume plus restreint et d'un maniement plus facile : il consiste en une sorte de pipette à gros renflement inférieur de 150 centimètres cubes environ, sur le tube supérieur de laquelle se trouve soufflée une petite boule, et où de part et d'autre sont disposés deux robinets. On la relie par le côté de la petite boule à la pompe à mercure et on la dispose dans une éprouvette que l'on remplit d'eau chaude.

On commence par vider l'air de tout l'appareil, jusqu'à ce qu'il ne reste plus une bulle gazeuse dans la chambre barométrique quand on remonte la cuvette mobile. On renverse sur le tube d'écoulement des gaz qui plonge sous le mercure de la petite cuvette supérieure, une éprouvette graduée pleine de mercure, puis on introduit le sang frais dans le réservoir, en prenant des précautions pour éviter sa coagulation pendant la durée de l'opération.

Pour ce faire, on introduit par le robinet inférieur, dans le réservoir vide d'air, un volume mesuré d'une solution bouillie de sel marin à 20 p. 100 (20^{cc} par exemple); après avoir eu soin de remplir au préalable la partie du tube placée en dehors du robinet.

(1) Würtz, *Chimie physiologique*, p. 343.
(2) Lambling, *Procédés de dosage de l'hémoglobine*, Nancy, 1882, p. 33.
(3) *Dictionnaire* de Würtz, art. Sang, p. 1430.

On fait ensuite arriver le sang du sujet à expérimenter par l'intermédiaire d'un tube en caoutchouc, relié à la canule déjà remplie de sang et plongeant dans la veine ou dans l'artère; on coiffe avec l'extrémité de ce tube la pointe inférieure du récipient, encore chargé de solution salée, puis on ouvre le robinet lentement et on laisse entrer le sang jusqu'à ce que la mousse arrive au-dessous de la petite boule du haut. On referme le robinet, on détache le caoutchouc d'amenée du sang, on plonge l'appareil dans l'éprouvette pleine d'eau à 36-37°, et l'on ouvre le robinet supérieur. Les gaz passent dans la chambre barométrique d'où on les renvoie dans la cloche graduée placée au-dessus.

On évite facilement le boursouflement du sang et le passage de la mousse dans la pompe par l'introduction d'une goutte d'huile dans la petite boule du récipient (Gautier).

L'extraction des gaz étant terminée, on détache le récipient, on ouvre le robinet inférieur et l'on recueille le liquide dans une éprouvette graduée. Le volume obtenu, diminué de celui de la solution salée introduite dans l'appareil pour éviter la coagulation, et de celui qui remplissait le petit tube adducteur en dehors du robinet, représente la quantité de sang mis en œuvre.

Il ne reste plus qu'à transporter la cloche à gaz sur une cuve à mercure, à lire le volume et à faire l'analyse soit par la méthode de Bunsen, soit par celle des réactifs humides d'absorption en prenant toutes les précautions indiquées.

3. DOSAGE DE L'OXYGÈNE CONTENU DANS LE SANG.

Quand on ne veut doser que l'oxygène contenu dans le sang ou le sérum, on peut recourir au procédé de Cl. Bernard, mais mieux encore à celui de MM. Schützenberger et Risler.

α. Procédé Cl. Bernard.

Ce procédé, basé sur le déplacement de l'oxygène combiné à l'hémoglobine par l'oxyde de carbone, a été mis en pratique par MM. Estor et Saint-Pierre. Il consiste à introduire 15 ou 20^{cc} de sang sous une cloche pleine de mercure, puis un excès d'oxyde de carbone pur, à remuer le mélange et à l'abandonner pendant une heure au moins. On fait ensuite passer le gaz dans une éprouvette graduée, on absorbe l'oxyde de carbone par le chlorure cuivreux ammoniacal et l'acide carbonique par la potasse. On mesure le volume restant; on absorbe l'oxygène par le pyrogallate potassique, et la diminution de volume fournit le résultat cherché.

Cette méthode est très défectueuse à cause de sa longue durée pendant laquelle les principes organiques du sang absorbent des quantités sensibles d'oxygène.

β. Procédé Schützenberger et Risler (1).

Principe. — Ce procédé est basé sur la facile réduction de l'indigo bleu par l'hydrosulfite de sodium qui se transforme en bisulfite, et sur la propriété que

(1) Quinquaud, *Chimie pathologique*, Paris, 1880.

possède l'oxygène de l'hémoglobine de réoxyder l'indigo réduit, pour le transformer de nouveau en indigo bleu, ainsi qu'il résulte des formules suivantes :

$$\underbrace{SO^2NaH}_{\text{hydrosulfite}} + O = \underbrace{SO^3NaH}_{\text{bisulfite}}$$

$$\underbrace{C^{16}H^{12}Az^2O^2}_{\text{indigo blanc}} + O = \underbrace{2\,C^8H^5AzO}_{\text{indigo bleu}} + H^2O$$

Réactifs. — Les réactifs sont au nombre de trois.

1° *Hydrosulfite de sodium.* — On remplit complètement de rognures de zinc un flacon d'environ 200^{cc}, sans les tasser, et l'on ajoute jusqu'au bord environ 100 grammes de bisulfite de soude de densité 1,26. On bouche hermétiquement, puis, au bout d'une demi-heure, on verse le liquide dans 5 litres d'eau, et l'on ajoute 50 à 100 grammes d'un lait de chaux contenant 200 grammes de chaux vive par litre. On agite et on laisse reposer; on décante ensuite le liquide clair dans des flacons bien remplis et bien bouchés pour le préserver du contact de l'air. La solution doit être titrée chaque fois.

2° *Sulfate de cuivre ammoniacal.* — On dissout 4^{gr},46 de sulfate de cuivre pur, cristallisé et non effleuri dans un peu d'eau, on ajoute de l'ammoniaque jusqu'à redissolution du précipité d'abord formé, puis on étend au litre à 15°. 1^{c} du liquide cède à l'hydrosulfite, en se décolorant, 0^{cc},1 d'oxygène, mesuré à 0 et 760.

3° *Solution de carmin d'indigo.* — On dissout au bain-marie 100 grammes de carmin d'indigo (sulfindigotate de sodium) en pâte dans 2 litres d'eau, on étend à 10 litres en mélangeant intimement; on distribue dans des flacons d'un litre, complètement remplis et bien bouchés, et l'on conserve la solution à l'abri de la lumière pour éviter toute altération.

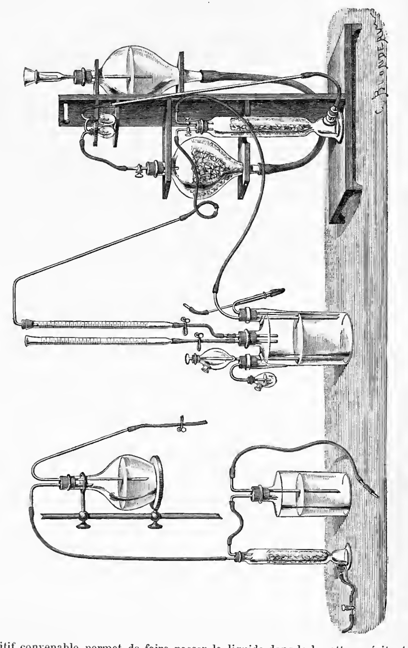
Description de l'appareil. — Toutes les opérations doivent se faire dans une atmosphère exempte d'air, obtenue au moyen de l'appareil construit par Alvergniat (1) et qui se compose : 1° d'un système de flacons et de burettes; 2° d'un grand générateur d'hydrogène, préparé par la réaction de l'acide chlorhydrique sur le zinc.

L'appareil proprement dit se compose d'un flacon à trois tubulures d'un litre environ de capacité. La tubulure du milieu est fermée par un bouchon à deux trous dans lequel s'engagent les extrémités de deux burettes de Mohr divisées en 1/10 de centimètre cube et fixées à un support commun. Les tubulures latérales sont fermées par des bouchons à deux trous; l'un d'eux reçoit un entonnoir à boule avec robinet, de 100^{cc} environ, dont le tube d'écoulement plongeant au fond, constitue le tube adducteur du gaz hydrogène; l'autre porte le tube de départ du gaz dont l'extrémité dirigée dans un vase plein d'eau remplit l'office d'un siphon de vidange; son extrémité inférieure, terminée par un tube de caoutchouc, peut être fermée en repliant le tube sur lui-même.

L'hydrosulfite est contenu dans un flacon fermé par un bouchon de caoutchouc à deux trous par lesquels pénètrent deux tubes coudés à angle droit, maintenus au-dessus du liquide; l'un est fermé par un caoutchouc et une baguette de

(1) Lambling, *loc. cit.*, p. 39.

verre plein; l'autre est relié à une conduite de gaz d'éclairage, débarrassé de son oxygène par un laveur à ponce imprégnée de pyrogallate potassique. Un dispo-



sitif convenable permet de faire passer le liquide dans la burette en évitant le contact de l'air.

La burette à hydrosulfite est fermée par un bouchon de caoutchouc à travers lequel un tube de verre amène et maintient une atmosphère d'hydrogène au-dessus du liquide.

La seconde burette contient l'indigo et n'offre rien de particulier.

Manuel opératoire. — Le manuel opératoire comprend une opération préliminaire, faite une fois pour toutes, c'est le titrage de l'indigo. L'hydrosulfite, au contraire, trop altérable, doit être titré fréquemment à l'aide de l'indigo.

1° *Titrage de l'indigo.* — On introduit avec une pipette 25^{cc} du sulfate de cuivre ammoniacal dans le flacon et l'on fait passer le courant d'hydrogène jusqu'à ce que tout l'air soit déplacé. On laisse couler l'hydrosulfite jusqu'à ce que la solution, vue sur fond blanc, soit décolorée ; quelques gouttes en plus font apparaître une teinte jaune clair, due à la réduction de l'oxyde cuivreux. La moyenne entre les deux limites, décoloration et coloration en jaune, sert de base aux calculs.

Supposons que, pour décolorer les 25^{cc} de sulfate cuivrique, il ait fallu 18^{cc},5 d'hydrosulfite.

On vide le flacon, on le lave à l'eau distillée et l'on titre avec les mêmes précautions la solution d'indigo en opérant sur 50^{cc}, et en s'arrêtant au moment où toute teinte verdâtre a disparu et où le liquide est devenu jaune clair. Admettons que l'on ait employé 8^{cc},7 d'hydrosulfite pour obtenir ce résultat, on procédera au dosage de la manière suivante :

Calcul.

25^{cc},0 sulfate de cuivre ou 18^{cc},5 hydrosulfite	2^{cc},5	d'oxygène
1^{cc},0 hydrosulfite correspond à	$\frac{2,5}{18,5}$	—
et 8^{cc},7 — ou 50^{cc} indigo	$\frac{2,5 \times 8,7}{18,5}$	—
1^{cc},0 indigo correspond par conséquent à.	$\frac{2,5 \times 8,7}{18,5 \times 50} = 0^{cc},0235$	—

La solution d'indigo ainsi titrée servira ultérieurement à doser l'hydrosulfite.

2° *Dosage de l'oxygène contenu dans le sang.* — On introduit dans le flacon lavé 200^{cc} d'eau bouillie et refroidie à + 45° et 50^{cc}, tenant en suspension 10 grammes p. 100 de kaolin, destiné à atténuer la coloration rouge du sang et à permettre de saisir nettement l'apparition et la disparition de la couleur bleue à la fin de la réaction, puis 50^{cc} d'indigo et l'on décolore par l'hydrosulfite après avoir fait passer le courant d'hydrogène.

Le tube de l'entonnoir à boule est rempli exactement d'eau bouillie et purgée d'air.

Le liquide jaune ne doit pas bleuir à la surface si l'atmosphère du flacon ne renferme plus d'oxygène. On verse alors de l'indigo jusqu'à apparition d'une teinte bleue, puis quelques gouttes d'hydrosulfite jusqu'à décoloration, et l'on obtient ainsi un milieu qui renferme exclusivement de l'indigo blanc sans excès d'hydrosulfite.

Le sang, défibriné par le battage à l'aide d'une petite baguette, dans un vase presque rempli et fermé par une membrane de caoutchouc percée d'un petit trou pour laisser passer l'agitateur, est aspiré dans une pipette à un seul trait

de jauge de 2 ou 5^{cc} (Ritter) et introduit dans l'entonnoir à boule, puis de là dans le flacon à indigo blanc; on lave la pipette avec de l'eau bouillie qu'on verse encore dans l'entonnoir et l'on fait passer tout le liquide sanguin dans le contenu du flacon à l'aide d'eau bouillie. On peut encore, comme le fait M. Quinquaud, aspirer directement le sang de la veine ou de l'artère à l'aide d'une petite seringue graduée dont les vides sont remplis d'eau purgée d'air, et l'introduire directement dans l'entonnoir. Le liquide trouble a pris une teinte bleue sous l'influence de l'oxygène de sang; on la détruit à l'aide de l'hydrosulfite en s'arrêtant à une teinte jaune rougeâtre franche sans mélange de vert.

5^{cc} de sang mis en œuvre ont exigé par exemple 8^{cc},5 d'hydrosulfite.

On titre alors seulement l'hydrosulfite en versant dans le mélange 50^{cc} d'indigo qui exigent pour leur décoloration 9^{cc},2 d'hydrosulfite.

Calcul.

50^{cc},0 d'indigo cèdent $50 \times 0{,}0235$ d'oxygène à.	9^{cc},2	d'hydrosulfite
1^{cc},0 d'hydrosulfite absorbe.	$\frac{50 \times 0{,}0235}{9{,}2}$	d'oxygène
et 8^{cc},5 d'hydrosulfite ou 5^{cc} de sang correspond à.	$\frac{50 \times 0{,}0235 \times 8{,}5}{9{,}2} = 1^{cc}{,}097$	—

$$100^{cc} \text{ de sang contiennent donc } 1^{cc}{,}097 \times \frac{100}{5} = 21^{cc}{,}94 \text{ d'oxygène.}$$

Remarque. — Si l'on compare les quantités d'oxygène que fournit l'analyse d'un même sang par le procédé de la pompe à mercure et par l'hydrosulfite, on observe ordinairement un écart sensible qui a été indiqué déjà par M. Schützenberger. Le procédé à l'hydrosulfite donne toujours 4 à 5^{cc} d'oxygène p. 100 de sang en plus que celui de la pompe.

Cette divergence s'explique bien facilement « par la rapidité avec laquelle le « sang abandonné à lui-même consomme l'oxygène qu'il renferme. Une opéra- « tion d'extraction de gaz à la pompe exige au moins un quart d'heure à vingt « minutes, et il n'est nullement étonnant de voir disparaître 4 à 5^{cc} d'oxygène « à la température de 40 ou 50°, tandis qu'avec notre procédé, le dosage est « instantané » (Schützenberger).

L'expérience ayant démontré que la réduction de l'oxyhémoglobine par l'hydrosulfite aboutit à la production de l'hémoglobine réduite seulement, sans aller jusqu'à l'hémochromogène, ainsi que l'avait pensé Hoppe-Seyler, il en résulte que le procédé de dosage de l'oxygène d'après Schützenberger est le seul exact pour le sang (Lambling, *loc. cit.*, p. 51 et suivantes).

§ IV. — RECHERCHE MÉDICO-LÉGALE DES TACHES DE SANG.

Si la simple observation microscopique est suffisante pour déterminer la nature des taches de mucus, de pus ou de sperme sur les vêtements ou le linge, etc.; il n'en est plus de même quand il s'agit de taches de sang. Celles-ci, indépendamment de leur examen au microscope, doivent être soumises à certaines opérations chimiques et physiques toutes spéciales.

L'étude médico-légale des taches de sang comprend les points suivants : 1° la recherche des taches, leur situation, leur disposition ; 2° leurs caractères physiques ; 3° leur examen microscopique ; 4° l'examen spectroscopique ; 5° la préparation des cristaux d'hémine ; 6° leur réaction en présence de la résine de gaïac ; 7° celle de la matière albuminoïde ; 8° enfin s'il est possible, l'origine des taches et leur âge.

Dans cette partie de l'étude du sang, nous nous bornerons à la détermination des caractères essentiels fournis par l'examen microscopique et spectroscopique, par la préparation des cristaux de Teichmann et enfin par la réaction de la résine de gaïac, en renvoyant pour le reste aux traités spéciaux (1).

1. EXAMEN HISTOLOGIQUE DES TACHES DE SANG.

Le globule sanguin est l'élément caractéristique du sang. Chez l'homme, il est circulaire, sans noyau et présente sur ses deux faces une dépression centrale qui le fait ressembler à une petite lentille biconcave, à bords épais et arrondis, dont le diamètre varie de 1/116 à 1/150 de millimètre, sur 1/1.000 à 1/700 d'épaisseur. La forme du globule s'altère sous l'influence de divers agents, en particulier de l'eau distillée ; il prend une forme framboisée et la membrane (?) finit par éclater, de sorte que la matière colorante passe dans le liquide ambiant. Il se conserve mieux dans certaines solutions salines naturelles telles que le sérum, le liquide d'hydrocèle, l'urine acide ou artificielle, les solutions de sulfate de soude, de chlorure de sodium, de sucre ou de glycérine. Ces globules ont une grande tendance à s'accoler en pile de monnaie.

Avec du sang frais, l'examen microscopique est très facile ; mais quand il est desséché en partie ou altéré par suite d'influences diverses, telle que le contact avec la bile, les alcalis, les sels ammoniacaux, les acides minéraux, ou l'action plus ou moins prolongée de la chaleur, etc., la recherche est plus délicate. Il importe alors, quand on veut retirer de ces débris organiques quelques corpuscules intacts assez bien conservés, susceptibles d'être caractérisés sans équivoque, d'humecter et de ramollir la tache avec un liquide qui la désagrége, sans altérer le globule et qui restitue même à ce dernier, l'eau qu'il a perdue par la dessiccation.

On a proposé à cet effet divers liquides tels que le sérum naturel qui, malgré une filtration soigneuse, peut encore contenir quelques globules, le liquide amniotique, enfin des liquides artificiels qui doivent avoir la densité du sérum sanguin, 1.026-1.030.

Le sérum artificiel de Malassez et Potain, employé dans leur compte-globules, présente la composition suivante :

Solution de gomme arabique de densité. . .	1,020	de chaque 1 volume.
— de sulfate de soude de densité. . .	1,020	
— de chlorure de sodium de densité. .	1,020	

(1) En particulier, art. Taches de sang, par M. Tourdes, in *Dictionn.* de Dechambre.
Idem. A Florence. Thèse de doctorat en médecine. Lyon, 1884.
Idem. Masson, pharmacien-major de 1re classe. Paris, 1884.

La formule de Roussin qui renferme de la glycérine est la suivante :

Glycérine.	3 parties
Acide sulfurique concentré.	1 partie
Eau distillée.	q. s. pour ramener la densité à 1,018

Le sérum iodé de Ranvier (iodure iodé) rend les globules plus visibles en les colorant en jaune.

Enfin, le liquide conservateur des globules de Bourgogne, dont la composition est gardée secrète, peut encore être utilisé.

Procédé opératoire. — On coupe la tache, on en détache des fragments si elle se trouve sur un objet dur, et on la place dans un verre de montre; on l'humecte avec quelques gouttes du liquide conservateur et on abandonne le tout, pendant 3 heures, à la température ordinaire, 15 à 20°. On gratte alors la surface de la tache avec un scalpel fin et propre, de façon à en détacher des fragments qu'on transporte sur une lamelle de verre; on recouvre avec une lamelle mince et on examine au microscope à un grossissement moyen de 390 diamètres (Microscope Nachet, oculaire n° 2, objectif n° 3). A côté de nombreux corps étrangers, on voit les globules rouges dont il faut étudier avec soin la forme, l'aspect et les dimensions.

Les globules circulaires, sans noyau, appartiennent aussi bien à l'homme qu'aux autres mammifères, mais ceux des caméliens, des reptiles, des oiseaux et des poissons, ont des globules elliptiques à noyau.

On doit alors procéder à une série de mesures de diamètres et ne conclure à la possibilité de la présence du globule de sang humain que si la moyenne est d'environ 1/200 de millimètre, et encore doit-on ne pas oublier que les globules du sang de porc qui est un de ceux qu'on peut se procurer le plus facilement, se rapprochent beaucoup de ceux de l'homme. On devra d'ailleurs faire des expériences comparatives avec des taches de sangs connus et d'âges différents.

2. EXAMEN SPECTROSCOPIQUE.

Une tache est bien constituée par du sang quand sa solution dans l'eau, ou le produit obtenu avec le liquide conservateur des globules examinés dans un verre de montre au microspectroscope de Sorby ou à l'hématospectroscope d'Hénocque, donne les deux bandes d'absorption de l'oxyhémoglobine entre D et E (voir p. 8) et quand ces bandes font place à la bande de Stockes, située dans l'espace clair compris entre les deux bandes précédentes, sous l'influence du sulfure d'ammonium.

3. FORMATION DES CRISTAUX D'HÉMINE.

On fait macérer la tache avec quelques gouttes d'eau dans un tube effilé; on casse ensuite la pointe et l'on verse un peu du liquide sur une lamelle de microscope, on y ajoute 1 goutte de chlorure de sodium au 1/200 et de 1 à 4 gouttes d'acide acétique au 1/4 pour neutraliser l'alcalinité; on mélange, puis on évapore à consistance sirupeuse de la periphérie vers le centre en chauffant avec

précaution sur une lampe à alcool. On ajoute alors de 2 à 5 gouttes d'acide acétique cristallisable, on concentre encore, on couvre, puis on examine la préparation au microscope. On observe des cristaux rhomboïdaux jaune brun de chlorhydrate d'hématine qui, au microscope polarisant à l'extinction, laissent seules passer la lumière colorée en jaune orangé (Morache).

Si la tache a été lavée à l'eau bouillante, on la fait digérer avec de l'aide acétique glacial à une douce chaleur.

4. RÉACTION DE LA RÉSINE DE GAÏAC.

Cette réaction est basée sur la propriété que possède une solution quelconque de sang de transporter l'ozone d'un composé ozonisé sur la résine de gaïac qu'il colore en bleu verdâtre. Comme composé ozonisé, on emploie l'essence de térébenthine récemment distillée et abandonnée pendant quelques jours dans un large cristallisoir à la lumière diffuse. La teinture de gaïac s'obtient en traitant par l'alcool 2 p. 100 de la partie centrale d'un gros morceau de résine.

On peut faire la réaction de diverses manières :

1° On ajoute au liquide sanguin quelques gouttes de teinture de gaïac dont la résine se précipite et donne au mélange un aspect laiteux. On verse dans ce mélange quelques gouttes d'essence de térébenthine et l'on voit se produire une teinte bleue s'il y a du sang. Quand la quantité de ce liquide est très faible, il faut attendre quelques minutes en agitant avec une baguette.

2° Falck prend comme liquide ozonisé le produit que donne la formule suivante :

Alcool	} de chaque.	20
Chloroforme		
Essence de térébenthine ozonisée		
Acide acétique cristallisable		2
Eau	q. s.	jusqu'à léger trouble persistant

Il triture dans un mortier quelques gouttes de cette mixture avec un fragment de résine de gaïac pris au centre d'un morceau et ajoute ensuite le liquide sanguin. En remuant le mélange, la coloration bleue paraît plus ou moins vite.

Cette réaction, excessivement sensible, se produit avec toute espèce de sang rouge, même après une dilution extrême (1 goutte p. 100^{cc} d'eau). Malheureusement la résine de gaïac est bleuie par une foule de substances et l'on apprécie la réaction en disant avec Limann : « Si le résultat est négatif, concluez fermement que ce n'est pas du sang; si la coloration se produit, n'affirmez rien et cherchez d'autres signes. »

CHAPITRE III.

ANALYSE DES SÉROSITÉS.

1. GÉNÉRALITÉS.

On réunit sous le nom de sérosités, non seulement les liquides des cavités séreuses proprement dites, mais aussi toutes les transsudations qui passent au travers des capillaires sanguins sans lésions préalables de leurs parois, et qui se trouvent disséminées soit dans les cavités, soit dans le parenchyme des organes, soit encore à la surface des corps (sérosités proprement dites, sérum sanguin, exsudats, liquides des kystes, phlyctènes, larmes, transsudations de l'intestin, etc.). Elles doivent à leur origine commune, le plasma du sang, sinon une identité complète, du moins une grande analogie; et, bien que ces liquides soient sous la dépendance de l'activité des cellules des organes dans lesquels ils se produisent, qu'ils soient mélangés à du sang ou exposés à des altérations spéciales, leur constitution chimique n'est généralement influencée qu'au point de vue des proportions relatives de leurs éléments constituants (de 1 à 80 p. 100 d'albumine, par exemple); dans ce cas, la même méthode analytique peut leur être appliquée.

Propriétés physiques. — Les sérosités sont en général faiblement alcalines, très souvent limpides, transparentes, à peine jaunâtres, et présentent quelquefois une fluorescence blanchâtre; d'autrefois elles sont épaisses, visqueuses, filantes, suivant les proportions de mucine et de paralbumine qu'elles renferment, et alors, souvent colorées en jaune ou jaune verdâtre, rarement rougeâtre. Elles peuvent être troublées par des coagulums de fibrine, par des globules sanguins, des corpuscules de pus, des cellules épithéliales, des globules gras (liquide lactescent de l'ascite chyleuse), et de la cholestérine. Leur saveur est d'ordinaire un peu fade et salée. Leur densité est en général plus faible que celle du sérum sanguin (1005 à 1030).

Principes constitutifs des sérosités. — Les éléments que l'analyse doit rechercher dans les sérosités sont de deux sortes. Les uns proviennent du sérum sanguin et leur présence est à peu près constante; ce sont : l'eau, la sérine, les globulines, les graisses, les savons, la cholestérine, les matières extractives, les sels minéraux, enfin les gaz. Les autres n'apparaissent pour la plupart que dans les transsudations pathologiques et comprennent : la paralbumine et la métalbumine, la caséine ou les albuminates alcalins et la myosine (?) (dans les kystes de l'ovaire et les tumeurs thyrodiennes), la syntonine (?) (hydrothorax), la vitelline (?)

(liquide amniotique), la mucine et les peptones muciques (synovie, liquide amniotique, larmes, kystes ovariques, hydropisies, liquides intestinaux dans le choléra, la dysenterie, et à la suite de purgations par les drastiques), la colloïdine (kystes de l'ovaire), les pigments (lutéine (?) du sérum et les liquides séreux, pigment de la coloration jaunâtre, verdâtre pâle des hydropisies, pigment de la coloration jaune plus ou moins foncée virant au bleu, à l'air, des liquides kystiques, etc.,) tous très mal connus; la bilirubine et les sels biliaires (ictère), l'hémoglobine et la méthémoglobine (kystes goitreux), l'urée (liquide amniotique, sérum sanguin, humeur aqueuse, humeur vitrée, hydropisies, urémie), la leucine et la tyrosine (maladies du foie et exsudats suppurés, la glucose (sérum sanguin, diabète), les lactates, les benzoates, les urates, la créatinine, la xanthine, l'inosite (liquide d'échinocoque).

Enfin les sérosités peuvent être troublées par des éléments en suspension, tels que : globules sanguins, fibrine, globules de pus, cellules épithéliales, globules graisseux (ascite chyleuse), cristaux de cholestérine, qu'on sépare par la filtration ou le repos prolongé.

2. ANALYSE DES LIQUIDES SÉREUX.

L'analyse des liquides séreux ne présente de particulier que la séparation et le dosage des diverses matières albuminoïdes qu'ils peuvent contenir et la préparation des cendres pour la recherche des sels fixes. La recherche des autres substances non albuminoïdes se fait par les procédés que nous avons indiqués à propos du sérum sanguin (p. 173).

A. Séparation et dosage des diverses matières albuminoïdes (1).

Les analyses qualitative et quantitative des diverses substances albuminoïdes des sérosités peuvent être menées de front, en opérant simultanément sur deux volumes égaux et assez considérables de liquide, 500 centimètres cubes par exemple.

a. Recherche de la fibrine.

Le liquide, abandonné au repos à la température de 15 à 20° pendant 12 heures au moins, peut donner un coagulum de fibrine dont on favorise la production par une agitation finale et que l'on recueille sur un morceau de toile blanche usée et mouillée au préalable.

On enlève, autant que faire se peut, les débris épithéliaux, les leucocytes et les globules sanguins emprisonnés, en lavant les flocons de fibrine sous un filet d'eau. La fibrine est caractérisée par son insolubilité dans l'eau, dans le chlorure de sodium au 1/10e, dans l'acide chlorhydrique faible qui la gonfle et les alcalis étendus qui la gonflent moins.

On la dose en rassemblant les filaments restés sur linge après lavage, desséchant à l'étuve à air à 120° et pesant.

(1) Hoppe-Seyler, *Chimie analytique*, p. 411; Méhu, *Chimie médicale*, p. 198; Dumouthiers, *Journ. de pharm. et de chim.*, 1886, t. XIV, p. 511.

b. Recherche de la caséine et des globulines.

Le liquide séparé de la fibrine est étendu de dix à vingt volumes d'eau, neutralisé par l'acide acétique dilué, puis traité par un courant prolongé d'acide carbonique. Le précipité floconneux se tasse par le repos. On le sépare par décantation du liquide, et on le divise en deux parties :

a) L'une, additionnée de quelques gouttes de chlorure de sodium concentré, se dissout si elle est constituée par de la myosine ou une globuline, qui sont toutes deux reprécipitées de leur solution par l'addition de chlorure de sodium en poudre. Le résidu insoluble dans le sel marin est constitué par de la caséine et de l'albuminate alcalin.

b) La seconde partie, lavée à l'eau pour éliminer la sérine, redissoute dans le moins possible de chlorure de sodium à 5 ou 10 p. 100, est consacrée à la détermination de la nature des globulines, sérumglobuline et fibrinogène, d'après les procédés décrits au chapitre des urines (p. 87).

Pour doser la caséine et les albuminates, on opère comme précédemment sur 100 centimètres cubes de liquide, exempt de fibrine. Le précipité tassé est recueilli sur un filtre taré, lavé avec une solution de chlorure de sodium à 5 p. 100 qui entraîne les globulines, séché rapidement à 105° pour coaguler la caséine, puis lavé à l'eau distillée jusqu'à ce que le liquide filtré ne précipite plus le nitrate d'argent; on lave encore à l'alcool, puis à l'éther pour enlever les corps gras et la cholestérine. On sèche de nouveau le filtre à 105-110°, puis on le pèse.

Les globulines ne sont pas complètement précipitées par l'acide carbonique dans le liquide neutralisé, mais par saturation à l'aide du sulfate de magnésie (Hammarsten). Pour les doser on suit le procédé décrit page 88; mais on doit retrancher du poids du filtre, celui de la caséine ou de l'albuminate alcalin obtenu dans la précédente opération, la caséine étant également précipitée par le sulfate de magnésie.

c. Recherche de la mucine et de la paralbumine.

Les liquides visqueux (kystes, synovie, etc.) renferment ordinairement de la mucine ou de la paralbumine, souvent toutes les deux mélangées, mais en proportion très variable.

a) Le liquide primitif qui renferme de la mucine, traité par l'acide acétique fournit un précipité insoluble dans un excès d'acide et dans le chlorure de sodium, tandis que les albuminates se redissolvent.

b) La paralbumine précipite également par l'acide acétique; mais le dépôt se dissout sans peine dans un excès de réactif et dans le chlorure de sodium; les albuminates ne se dissolvent pas dans ces conditions.

Pour doser la paralbumine, on élimine les albuminates, globulines, etc., par le sulfate de magnésie. Le liquide filtré est dialysé en faisant passer un courant d'eau continu dans le vase extérieur. Après trois ou quatre jours, on s'assure qu'il ne passe plus de sulfate de magnésie dans l'eau extérieure; on précipite alors le liquide contenu dans le dialyseur par cinq volumes d'alcool à 90-95°, on recueille le précipité sur un filtre taré, on le lave à l'alcool à 80°, on le sèche à l'air libre ou au maximum à 30°; puis on le reprend par de l'eau distillée tiède qui dissout la paralbumine et laisse la sérine et la mucine insolubles. La solution

additionnée d'un peu de chlorure de sodium est précipitée par la chaleur. Le précipité jeté sur un filtre taré est pesé après lavage et dessiccation; il représente le poids de la paralbumine.

On pourrait encore précipiter la solution finale de la paralbumine par cinq volumes d'alcool acétique, filtrer après 12 heures, laver avec de l'alcool, sécher et peser.

d. Dosage des matières albuminoïdes totales.

Le liquide primitif, privé par filtration de tous les éléments solides qu'il renferme (fibrine, épithélium, etc.), est consacré au dosage en opérant, suivant les proportions d'albumine présentes, sur 25 ou 50 centimètres cubes. On se sert, à cet effet, soit de la méthode de coagulation à chaud (voir *Urines*, p. 84), soit de la précipitation par l'alcool (voir *Sang*, p. 179), en épuisant le coagulum par l'éther afin d'enlever les matières grasses.

On pourrait encore employer la méthode des dépôts d'Esbach (p. 93), mais le résultat serait beaucoup moins précis. Il en est de même d'ailleurs de l'usage du polarimètre, recommandé par Vogel.

Dans le dosage des matières albuminoïdes au polarimètre, on examine le liquide primitif filtré, suivant son opacité et sa coloration, sous une épaisseur de 20, 15 ou 10 centimètres, en observant les précautions indiquées (page 102).

Les globulines ayant un pouvoir rotatoire un peu plus faible que celui de la sérine, les résultats sont en général un peu trop forts; mais l'erreur en plus est assez faible pour qu'on puisse la négliger.

Remarque. — Dans le cas de diabète sucré, les sérosités peuvent renfermer du sucre dont la présence vient troubler les résultats fournis par le dosage polarimétrique des albumines; mais on tient facilement compte de la quantité de glucose en précipitant un certain volume de liquide, 50 centimètres cubes par exemple, par un excès d'alcool, 200 centimètres cubes. On sépare le dépôt albuminoïde par le filtre, et l'on évapore le liquide filtré pour chasser l'alcool; on redissout ensuite le résidu dans l'eau et l'on ramène au volume primitif, 50 centimètres cubes. La déviation à droite de cette solution de sucre devra être ajoutée à celle du liquide primitif albumineux, examiné sous la même épaisseur; la somme algébrique des deux représentera la déviation qu'aurait imprimée l'albumine seule au plan de polarisation, en l'absence de glucose.

e. Recherche et dosage de la sérine.

En présence de la paralbumine, la sérine est caractérisée par ce fait qu'elle reste insoluble sur le filtre qui renferme le précipité alcoolique, desséché à 30°, dont on a extrait la paralbumine par l'eau tiède.

Le poids de cette sérine s'obtient facilement en retranchant du poids total des matières albuminoïdes la somme des poids de la fibrine, de la caséine, des globulines et de la paralbumine.

En l'absence de la paralbumine, on soumet à la dialyse la solution magnésienne, débarrassée comme précédemment de la caséine et des globulines, en ajoutant au liquide des traces d'acide cyanhydrique pour éviter la putréfaction. On traite ensuite la solution de sérine, restée sur le dialyseur, soit par la chaleur, soit par l'alcool et l'on procède au dosage comme on l'a dit précédemment.

6° *Recherche de la colloïdine.* — Cette matière translucide, d'aspect gélatiniforme, précipitable par l'alcool fort, non coagulable par la chaleur, ni dialysable, a été trouvée dans certains kystes de l'ovaire par MM. Gautier, Cazeneuve et Daremberg (1). Son précipité alcoolique se redissout facilement dans l'eau. Elle n'est précipitée par aucun des agents qui précipitent les matières albuminoïdes, tels que l'acide acétique, l'acide picrique et les sels métalliques. Le réactif de Millon donne à chaud une coloration rose sans la précipiter. Le tannin seul, avec l'alcool, la rend insoluble.

B. Dosage des sels minéraux.

La recherche et le dosage des sels minéraux doit se faire avec le produit de l'incinération complète de la substance, effectuée suivant les règles indiquées précédemment (p. 143). Celles-ci doivent cependant subir, dans le cas particulier, des modifications, à cause de la proportion variable de soufre et de phosphore qui se trouvent dans les sérosités à l'état de combinaisons organiques, telles que : albumines, lécithine, acide taurocholique, etc., et qui, donnant par oxydation de l'acide sulfurique et de l'acide phosphorique, transformeront certains sels qui devraient se trouver dans les cendres, particulièrement les chlorures et les carbonates, en sulfates et phosphates, avec déplacement et perte des acides chlorhydrique et carbonique correspondants.

On devra donc éliminer, au préalable, les combinaisons organiques de ce genre. A cet effet, on précipitera un certain volume du liquide primitif 50 à 100 centimètres cubes environ par un excès d'alcool. Le précipité recueilli sur un filtre lavé à l'acide, sera lavé à l'alcool, puis à l'eau à 30-40° et les liquides alcooliques seront évaporés au bain-marie. L'extrait, repris par l'alcool absolu, cédera à ce dernier la lécithine qu'on enlèvera au nouveau produit de l'évaporation de la solution alcoolique par l'éther anhydre qui ne dissout aucun sel minéral. Tous les liquides et extraits alcooliques, réunis aux eaux de lavage du précipité albumineux seront évaporés; le résidu obtenu sera calciné, en prenant les précautions indiquées pour le lavage et l'incinération du charbon.

Le précipité albuminoïde resté sur filtre, calciné à part, donne des cendres qui renferment les phosphates de chaux, de magnésie et peut-être de fer, et qu'on examine séparément.

C. Sérosités chyleuses.

Dans le cas particulier de liquides ascitiques d'aspect laiteux (ascite chyleuse), on peut doser les matières grasses et albuminoïdes par la méthode d'Adam décrite pour le dosage du beurre dans le lait (p. 207) (2). L'emploi des dissolvants tels que le chloroforme, l'éther, le sulfure de carbone, agités directement avec le liquide primitif, donne en effet une émulsion blanche et très stable, dont la séparation par couches ne s'effectue jamais complètement.

Quant à la séparation des principes gras, on opère comme il est dit pour l'analyse des corps gras (p. 277).

(1) *Mém. de la Soc. de biologie*, 1884, p. 243.

(2) Quinochet, Démonstration de la réalité de l'ascite chyleuse, *Journ. de pharm. et de chim.*, 1886, t. XIV, p. 169.

CHAPITRE IV.

ANALYSE DES PRODUITS DE SÉCRÉTION.

Les diverses sécrétions de l'économie animale présentent des constitutions complexes, qui, pour la plupart d'entre elles, sont encore loin d'être établies d'une manière complète. A l'exception du lait et de la bile, on se trouve réduit, pour les autres sécrétions, à la connaissance d'un certain nombre de faits qui, pour être définitivement acquis à la science, nécessiteraient une étude plus approfondie. De là l'impossibilité de donner, dans la plupart des cas, une méthode analytique précise de tous les produits de sécrétions, et l'obligation de nous contenter, le plus souvent, de déterminer les principaux caractères de ces liquides, au point de vue normal et pathologique.

§ I. — ANALYSE DU LAIT ET DU COLOSTRUM.

1. GÉNÉRALITÉS.

Le lait provient de la fonte des cellules de la glande mammaire. C'est un liquide blanc jaunâtre, opaque, de saveur douce, légèrement saline et sucrée, à odeur spéciale non désagréable qui peut être modifiée par la nature de l'alimentation. Sa densité peut varier de 1018 à 1045. Sa réaction au tournesol varie avec l'espèce : le lait de femme normal est toujours alcalin, tandis que chez les carnivores, il est acide. Chez la vache et la chèvre il peut être alcalin, neutre ou acide ; l'alcalinité prédomine cependant au moment de la traite.

Abandonné au repos, même à l'abri de l'air, le lait subit rapidement une fermentation acide dans laquelle la lactose se transforme peu à peu en acide lactique, d'où un changement dans la réaction du liquide qui devient de plus en plus acide; cette fermentation est accélérée par l'élévation de la température. Le lait s'épaissit peu à peu, puis la caséine se coagule en entraînant avec elle la presque totalité des corps gras, quand la proportion d'acide lactique est assez forte (7 à 8 grammes par litre pour le lait de vache); la fermentation s'arrête à 12 ou 13 grammes d'acide (Marchand).

Le lait bouilli fermente beaucoup plus lentement que le lait cru.

Par un repos prolongé il se sépare en deux couches, l'une supérieure, représentant de 10 à 15 p. 100 du volume total, onctueuse, jaunâtre et constituée par

la majeure partie des globules graisseux (crème); l'autre inférieure, bleuâtre, encore opalescente, contenant la presque totalité des éléments constitutifs autres que les corps gras, dont une partie, d'ailleurs très variable, reste cependant en suspension. Cette séparation, favorisée par une température de 40 degrés, devient presque complète en 24 heures si l'on neutralise l'acide lactique qui se produit simultanément par une addition préalable d'un alcali (Quesneville). Le lacto-sérum inférieur ne contient plus, après 24 heures, que 0gr,60 de corps gras en suspension qui lui donnent une légère teinte opaline.

Les éléments les plus importants du lait sont, à côté de l'eau (89 p. 100 en volume), des corps gras qui nagent dans le liquide sous forme de globules microscopiques de grandeur variable, de la caséine et de l'albumine, de la lactose et des sels, parmi lesquels prédomine le phosphate de chaux.

Le lait sécrété pendant la première période de la lactation diffère de celui qui est éliminé plus tard.

Avant la parturition et dans les premiers jours qui la suivent, et même quelquefois jusque vers le quinzième, le lait de femme aussi bien que celui de vache porte le nom de *colostrum*.

A côté de globules d'un diamètre plus considérable que celui des globules graisseux du lait normal, formés par l'agglomération de ces derniers et possédant une enveloppe et non un noyau central (globules de colostrum), ce liquide renferme beaucoup d'albumine mais peu de caséine, de lactose et de graisse. A une époque plus avancée, la proportion de ces deux derniers éléments se relève, tandis que l'albumine diminue et se trouve presque totalement remplacée par de la caséine.

Par un séjour prolongé dans la glande mammaire le lait se sépare en deux couches, comme lorsqu'on l'abandonne à lui-même après la traite; de sorte que les premières portions soutirées sont beaucoup plus aqueuses et plus pauvres en corps gras que celles de la fin.

En face de ces variations multiples qui peuvent se produire dans la composition du lait, on doit observer fidèlement les règles pratiques suivantes indiquées par Hoppe-Seyler, quand il s'agit de l'analyse de ce liquide :

1° Vider complètement la glande mammaire lorsqu'on veut analyser le lait d'un animal dans diverses conditions d'alimentation, variables avec l'âge, la race, etc.;

3° Mélanger intimement toutes les couches du lait provenant de la traite complète, avant de commencer une opération;

3° Déterminer la réaction du liquide au moment même où l'on commence à le tirer.

Principes constitutifs du lait.

Les éléments constitutifs du lait se subdivisent en deux groupes : 1° éléments normaux et constants; 2° éléments anormaux et inconstants.

Les éléments normaux sont : l'eau, les corps gras, la caséine, la sérine, la lactose; on peut y déceler aussi, mais accessoirement, de l'acide acétique (?), de l'urée et des matières extractives, des sels minéraux, formés de chlorures de sodium et de potassium, phosphates alcalins, carbonates alcalins (dans les cen-

dres), traces de sulfates, de fer, de fluorures et de silice. On y trouve encore en dissolution de l'azote, de l'oxygène et de l'acide carbonique.

Dans le second groupe rentrent l'acide lactique (de fermentation), l'hématine, l'urée, les matières colorantes biliaires, la mucine, et comme éléments microscopiques, les globules de sang et de pus, les corpuscules muqueux, les coagulums fibrineux à côté des globules sanguins, puis des organismes inférieurs, agents de coloration anormale (lait bleu, lait jaune).

Nous indiquerons ultérieurement les substances qui, introduites dans l'économie par les aliments ou une médication quelconque, passent dans le produit de la sécrétion lactée.

2. PROCÉDÉS D'ANALYSE DU LAIT.

Toutes les questions relatives à la composition du lait présentent une importance aussi marquée pour le médecin que pour l'hygiéniste. L'analyse permet, en effet, d'apprécier d'une façon exacte la valeur nutritive de ce produit de sécrétion, destiné aussi bien à l'alimentation exclusive du jeune enfant qu'à celle de l'adulte, atteint d'affections spéciales, telles que cancer stomacal, l'ulcère rond, les néphrites, etc., etc. Elle révèle, en outre, les falsifications très fréquentes que font subir à ce liquide nourricier par excellence des marchands peu scrupuleux et insouciants de la santé générale et de l'hygiène publique.

Les *procédés de falsification du lait* sont en général bien simples; nous ne parlerons, que pour mémoire, de l'addition des féculents, des gommes, de la dextrine, du sucre, etc., de l'albumine ou de la cervelle broyée, fraudes aujourd'hui complètement abandonnées.

On trouve dans le commerce deux variétés de lait dont la mise en vente sous leur dénomination exacte est seule licite : 1° le lait pur et entier; 2° le lait écrémé. Le premier seul constitue le lait; le second a perdu souvent la presque totalité de ses principes gras : il y a donc une première falsification possible par *écrémage*. La seconde, corrélative de la précédente, parce qu'elle corrige l'augmentation de densité qui résulte de la soustraction du beurre, consiste dans l'*addition d'eau*.

Pour éviter la coagulation du lait par l'acide lactique formé, aux dépens de la lactose, coagulation fréquente, surtout en été, on additionne le lait de *bicarbonate de soude* (1 p. 1000 d'après Payen) qui transforme cet acide en un nouveau corps neutre, mais purgatif, le lactate de soude. L'emploi du borax qui doit arrêter la fermentation donne des résultats peu satisfaisants qui l'ont fait abandonner.

Les *procédés d'analyse* du lait se subdivisent en deux groupes bien distincts :

1° *Procédés rapides*, n'exigeant qu'un nombre restreint d'opérations simples, telles que la détermination de la densité du lait à 15°, de la quantité de crème et de la densité du lait écrémé (Muller), le dosage du beurre au lactobutyromètre (Marchand), l'appréciation de la richesse du lait en globules gras, basée sur l'opacité plus ou moins grande du liquide (lactoscope de Donné, méthode optique de Vogel), ou sur la numération directe faite au microscope, à l'aide d'un appareil analogue au compte-globules de Malassez, etc., etc.

2° *Procédés par la pesée*, les seuls rigoureux, et qui consistent à peser chaque composé contenu dans le lait après avoir été préalablement isolé.

3. ANALYSE RAPIDE DU LAIT.

Nous ne nous attacherons pas à décrire le lactoscope de Donné, dont les indications, très rapides il est vrai, mais peu comparables entre elles pour un même opérateur, ne le sont plus du tout pour deux opérateurs différents, ni la méthode optique du galactomètre de Vogel (1) à laquelle on a fait le même reproche. Il en sera de même du procédé de numération des globules au microscope, procédé dans lequel les résultats sont multipliés par des coefficients si considérables que les erreurs dont ils sont entachés, multipliées dans la même proportion, ne leur laissent plus aucune certitude. Mais nous nous occuperons surtout des procédés pratiques suivis généralement dans les laboratoires d'essais.

α) Détermination de la densité du lait.

Le *lactodensimètre* de Quévenne et Bouchardat est un aréomètre en verre dont le flotteur est très volumineux par rapport à la tige très mince. Il a été modifié par Müller, qui a substitué un flotteur en laiton au flotteur en verre du densimètre primitif.

L'appareil doit être plongé dans le lait à 15°, température à laquelle il a été gradué, sinon on devra corriger les indications qu'il donne en recourant aux tables construites par Quévenne, et dont l'une sert pour le lait pur entier, l'autre pour le lait écrémé.

On lit la division d'affleurement au niveau supérieur du ménisque et l'on obtient la densité en faisant précéder de 10 le chiffre de la division.

La graduation va de 15 à 45; de chaque côté se trouve une règle teintée, l'une en jaune pour le lait non écrémé, l'autre en bleu pour le lait écrémé, et portant de trois, en trois degrés, les indications 1/10, 2/10, 3/10, etc., correspondantes aux quantités d'eau que renferme le lait en plus de la proportion normale.

D'après les auteurs, le lait pur et entier a une densité comprise entre 1029 et 1033; il contient 1/10 d'eau ajoutée, 2/10, 3/10, etc., suivant que sa densité est comprise entre 1.029 et 1026, 1029 et 1023, 1023 et 1020. Le lait écrémé et non mouillé est plus dense (1032,5 à 1036,5), et l'on trouve sur l'échelle bleue, les quantités d'eau introduites par le mouillage 1/10, 2/10, 3/10, etc., correspondantes aux densités de 1.032 à 1029, 1029 à 1026, 1026 à 1023, etc.

La première condition à remplir, avant de prendre la densité du lait, ou de le soumettre à une opération quelconque, consiste à rendre le liquide homogène dans toute sa masse par une douce agitation. En outre, le lacto-densimètre doit y être plongé avec précaution afin d'éviter de mouiller et par suite d'alourdir la tige au-dessus du point d'affleurement.

Les indications du lactodensimètre peuvent être utiles quand elles sont cor-

(1) Chevalier et Baudrimont, *Dict. des falsifications*, 6e édit., 1882, p. 742.

roborées par des résultats d'autres opérations; à elles seules, elles sont complètement insuffisantes et ne permettent aucunement de juger de la fraude. En effet, un lait riche en beurre ayant une densité trop faible pourra être saisi, tandis qu'on laissera en circulation un lait écrémé dont la densité aura été ramenée vers les limites normales par une addition convenable d'eau. Les industriels connaissent, d'ailleurs, parfaitement la valeur de ces résultats, puisqu'il ne se trouve plus aujourd'hui de laitier intelligent qui ne se serve couramment du lactodensimètre.

β) Détermination de la crème.

Le *crémomètre* de Chevalier est un vase cylindrique, porteur d'une graduation partant du haut et qui indique, quand on le remplit de lait jusqu'au 0 et qu'on l'abandonne 24 heures à la température ordinaire, la teneur en centièmes du liquide en crème. Un lait de bonne qualité doit donner de 10 à 14 et plus p. 100 de crème. Pour que les résultats soient aussi comparables que possible, il faut que la colonne de liquide ne soit ni trop haute ni trop basse, ni trop large, ni trop étroite; il faut donc s'en tenir exactement aux rapports de grandeur indiqués par Chevalier et qui sont : une éprouvette cylindrique de 14 centimètres de haut sur $3^{cm},8$ de diamètre intérieur dans laquelle une capacité de 150^{cc} à partir du fond est divisée en 100 parties égales.

La séparation de la crème ne se fait pas toujours facilement ni d'une manière totale. Le lait bouilli n'en donne presque pas; de plus, le lait se coagule quelquefois, surtout en été, avant la montée des corps gras. Les indications du crémomètre n'ont donc pas une valeur absolue, mais combinées avec celles que donne la densité du lait primitif, puis du lait écrémé, elles permettent souvent de décider les questions que l'emploi du densimètre seul laisserait complètement indécises (Müller de Berne). Pour ce faire, après avoir mesuré l'épaisseur de la couche de crème, on l'enlève à l'aide d'une petite cuiller, et l'on prend la densité du lait écrémé; il est ensuite facile de comprendre que la détermination du poids de la crème permettra de juger s'il y a eu ou non écrémage frauduleux et que la densité du lait écrémé indiquera s'il y a eu ou non mouillage. Mais on ne doit pas oublier que ces deux opérations peuvent être entachées d'une certaine erreur, par suite d'une séparation incomplète des corps gras.

γ) Dosage rapide du beurre.

Le *lactobutyromètre* de Marchand se compose d'un tube cylindrique étroit et long de 40^{cc} environ portant, à partir du fond, trois divisions dont chacune indique 10^{cc} de capacité. On le remplit de lait jusqu'au premier trait, puis on y ajoute une goutte de soude caustique à 36°, destinée à faciliter la séparation du beurre et à empêcher la caséine de se coaguler, on ajoute ensuite de l'éther jusqu'au deuxième trait et l'on mélange intimement en fermant le tube. On verse de l'alcool à 86° ou 90° jusqu'au troisième trait, on mélange de nouveau et l'on plonge le tube fermé dans une haute éprouvette en fer-blanc pleine d'eau et chauffée jusqu'à 43° au moyen d'alcool contenu dans une petite capsule fixée à sa base (Salleron). Les corps gras du lait viennent se rassembler à la surface sous la forme d'une couche huileuse dont on lit l'épaisseur sur une graduation

spéciale que porte la partie supérieure du tube (soit n degrés). En outre de cette couche de graisse, la masse du liquide retient une combinaison à proportion constante d'éther et de beurre, évaluée par Marchand à 0gr,126 pour 10cc de lait. La quantité de beurre x contenue dans un litre de lait est donnée par la formule :

$$x = n \times 2{,}33 + 12^{gr}{,}6.$$

La table établie par M. Marchand dispense de ce calcul.

L'emploi du lactobutyromètre conduit malheureusement à des erreurs considérables dues à l'influence manifeste de l'état de concentration du lait, de l'alcool et de l'éther, de la température et de la proportion de soude employée; ses résultats ne peuvent donc être considérés que comme approximatifs.

Pour éliminer, autant que possible, ces diverses causes d'erreur, on peut se servir, comme au laboratoire municipal de Paris, d'un mélange fait à l'avance et en proportions rigoureusement constantes d'éther, d'alcool et d'ammoniaque (1) dont on ajoute 20cc à 10 de lait, et chauffer l'appareil de Marchand, au moyen d'un bain-marie réglé exactement à 43°-44°, puis finalement, lire au bout de vingt à vingt-cinq minutes.

Indépendamment du procédé que nous venons de décrire, on en a imaginé un grand nombre d'autres, destinés à doser plus ou moins rapidement, plus ou moins exactement le beurre contenu dans le lait; mais les limites que nous nous sommes imposées ne nous permettant pas de les énumérer, nous renvoyons le lecteur aux traités spéciaux.

En résumé, les indications fournies par la seule détermination de la densité du lait n'ont pas grande utilité; car si d'un côté la composition d'un lait pur et entier est sujette aux variations physiologiques les plus diverses et telles que la densité peut être bien supérieure ou inférieure aux limites indiquées par Quévenne, d'autre part, on conçoit facilement que le laitier, après avoir écrémé son lait, le ramène très simplement à la densité normale par une addition d'eau.

Il n'en est plus de même si, à ce premier résultat, on ajoute ceux que donne la détermination de la crème et de la densité du lait écrémé (méthode du Dr Müller) (2), sachant qu'un lait pur moyen, provenant du mélange de la traite de toute une étable, présente une densité de 1029 à 1033, qu'il doit fournir au minimum 10 p. 100 de crème, enfin que la densité du lait écrémé doit être comprise entre 1032,5 et 1035,5. Le crémomètre rendra compte de l'écrémage et la densité du lait écrémé permettra de calculer approximativement la proportion d'eau ajoutée, s'il y a eu mouillage.

Mais nous avons dit que l'emploi du crémomètre et par suite la détermination de la densité du lait écrémé sont fort sujets à caution; en effet, la montée de la crème ne se fait bien et vite qu'à une température voisine de 40 degrés, à laquelle la fermentation lactique est suractivée, de telle sorte qu'on court le

(1) Mélange de :

Alcool à 90°	500	centim. cubes
Éther à 66° lavé	500	—
AzH^3 pure ($D = 0{,}92$)	5	—

(2) *Manuel de l'essai de lait du vache*, par le Dr Chr. Müller, Berne, 1874.

risque de voir fréquemment le lait se cailler avant que les 24 heures de repos ne soient écoulées; et si, pour retarder cette fermentation et empêcher la coagulation, on abandonne au frais, la crème ne monte plus que difficilement et très incomplètement.

Ces difficultés que rencontre dans son application la méthode du Dr Müller, sont heureusement écartées dans le procédé imaginé par le Dr Quesneville dont nous allons exposer plus bas les points principaux.

4. ANALYSE RAPIDE DU LAIT DE FEMME.

Il existe dans le commerce, en Allemagne, de petits nécessaires renfermant un densimètre et un lactobutyromètre dont les dimensions, très restreintes, permettent de déterminer la densité et la richesse en beurre du lait de femme en n'exigeant qu'une dizaine de centimètres cubes de liquide. Cet outillage spécial est évidemment susceptible de toutes les critiques que nous venons de faire des appareils de Bouchardat et Marchand, dont ils ne sont que les réductions.

5. PROCÉDÉ DU Dr QUESNEVILLE (1).

Principe. — Quand on ajoute au lait une solution alcaline, ou un mélange d'ammoniaque et de soude, dans des proportions convenables, et qu'on abandonne au repos, la crème se sépare complètement en 24 heures à la température ordinaire, presque complètement en une heure, complètement en 12 ou 24 heures à la température de 40 à 50°. Dans ce dernier cas, il reste une quantité très faible et sensiblement constante, 0gr,60 de corps gras, en suspension dans le lait écrémé qui a un aspect opalescent un peu jaunâtre, et dont la coagulation se trouve retardée de 7 à 8 jours. L'auteur donne à ce lait complètement écrémé le nom de *lactosérum*.

Appareils. — 1° Lactodensimètre ou tout autre densimètre exact et très sensible, donnant les millièmes, avec échelle comprise entre 1020 et 1040.

2° Crémomètre de Chevalier, ou mieux éprouvette cylindrique, fermée au bas par un robinet, de 6 centimètres de diamètre, et graduée pour 250 centimètres cubes à 15°, en centimètres cubes et en divisions telles que 60 de ces divisions égalent 100 centimètres cubes.

Réactif. — Solution ammoniacale sodée *ayant la densité de l'eau à 15°*, et obtenue en mélangeant :

Lessive des savonniers marquant 1,34 à 15°.	32 centimètres cubes.
Ammoniaque de D = 0,93 à 15°.	225 —

Lorsqu'on ajoute 4cc de ce réactif à 250cc de lait, la densité n'est pas changée.

Manuel opératoire. — 1° On prend exactement la densité du lait à analyser, à 15°; si l'opération ne peut pas s'effectuer dans ces conditions on corrige la température d'après le tableau de Quévenne.

(1) *Nouvelles méthodes pour la détermination des éléments du lait*, par le Dr Quesneville, Paris, 1884.

TABLEAU N° 1. — Crème séparée à 40° de 250 centim. cubes de lait pur ou mouillé.

Mouillage. . .	50 p. 100		40 p. 100		30 p. 100		25 p. 100		15 p. 100		0 p. 100	
BEURRE	*v*	*n*	*v*	*n*	*v*	*n*	*v*	*n*	*v*	*n*	*v*	*n*
gr.	c. c.	d	c. c.	d.	c. c.	d.	c. c.	d.	c. c.	d.	c. c.	d.
18	7,4	4,4	8,4	5,0	9,3	5,6	10,3	6,2	11,4	6,8	13,0	7,8
20	8,6	5,2	9,7	5,8	10,6	6,4	11,7	7,0	12,9	7,7	14,5	8,7
22	9,8	5,9	10,9	6,5	12,0	7,2	13,1	7,8	13,3	8,6	16,0	9,6
24	11,0	6,6	12,2	7,3	13.3	8,0	14,5	8,7	15,8	9,4	17,5	10,5
26	12,2	7,3	13,4	8,0	14,6	8,8	15,8	9,5	17,2	10,3	19,0	11,4
28	13,4	8,0	14,7	8,8	15,9	9,6	17,2	10,3	18,7	11,2	20,5	12,3
30	14,6	8,8	15,9	9,5	17,3	10,3	18,6	11,1	20,1	12,1	22,0	13,2
32	15,8	9,5	17,2	10,3	18,6	11,1	20,0	12,0	21,6	12,9	23,5	14,1
34	17,0	10,2	18,4	11,0	19,9	11,9	21,3	12,8	23,0	13,8	25,0	15,0
36	18,2	10,9	19,7	11,8	21,2	12,7	22,7	13,6	24,5	14,7	26,5	15,9
38	19,4	11,6	20,9	12,5	22,6	13,5	24,1	14,4	25,9	15,5	28,0	16,8
40	20,6	12,4	22,2	13,3	23,9	14,3	25,5	15,3	27,4	16,4	29,5	17,7
42	21,8	13,1	23,4	14,0	25,2	15,1	26,8	16,1	28,8	17,3	31,0	18,6
44	23,0	13,8	24,7	14,8	26,5	15,9	28,2	16,9	39,3	18,1	32,5	19,5
46	24,2	14,5	25,9	15,5	27,9	16,7	29,6	17,7	31,7	19,0	34,0	20,4
48	25,4	15,2	27,2	16,3	29,2	17,5	31,0	18,6	33,2	19,9	35,5	21,3
50	26,6	16,0	28,4	17,0	30,5	18,3	32,3	19,4	34,6	20,8	37,0	22,2
52	27,8	16,7	29,7	17,8	31,8	19,1	33,7	20,2	36,1	21,6	38,5	23,1
54	29,0	17,4	30,9	18,5	33,2	19,9	35,1	21,0	37,5	22,5	40,0	24,0
56	30,2	18,1	32,2	19,3	34,5	20,7	36.5	21,8	39,0	23,4	41,5	24,9
58	31,4	18,8	33,4	20,0	35,6	21,5	37,8	22,7	40,4	24,2	43,0	25,8
60	32,6	19,5	34,7	20,8	36,9	22,3	39,2	23,5	41,9	25,1	44,5	26,7
62	33,8	20,3	35,9	21,5	38,5	23.1	40,6	24,3	43,3	26,0	46,0	27,6
64	35,0	21,0	37,2	22,3	39,8	23,9	42,0	25,1	44,8	26,8	47,5	28,5
66	36,2	21,7	38,4	23,0	41,1	24,6	43,3	26,0	46,2	27,7	49,0	29,4
68	»	»	39,7	23,8	42,4	25,4	44,7	26,8	47,7	28,6	50,5	30,3
70	»	»	40,9	24,5	43,8	26,2	46,1	27,6	49,1	29,5	52,0	31,2
72	»	»	42,2	25,3	45,1	27,0	47,5	28,4	50,6	30,3	53,5	32,1
74	»	»	43,4	26,0	46,3	27,8	48,8	29,3	52,0	31,2	55,0	33,0
76	»	»	44,7	26,8	47,6	28,6	50,2	30,1	53,5	32,1	56,5	33,9
78	»	»	45,9	27,5	49,0	29,4	51,6	30,9	54,9	32,9	58,0	34,8
80	»	»	»	»	50,3	30,2	53,0	31,7	56,4	33,8	59,5	35,7
82	»	»	»	»	51,6	31,0	54,3	32,6	57,8	34,7	61,0	36,6
84	»	»	»	»	52.9	31,8	55,7	33,4	59,3	35,7	62,5	37,5
86	»	»	»	»	54,3	32,6	57,1	34,2	60,7	36.4	64,0	38,4
88	»	»	»	»	55,6	33,4	58,5	35,0	62,2	37,3	65,5	39,3
90	»	»	»	»	56,9	34.2	59,8	35,9	63,6	38,2	67,0	40,2
92	»	»	»	»	58,2	35,0	60,2	36,7	65,1	39,0	68,5	41,1
94	«	»	»	»	59,6	35,8	62,6	37,5	66,5	39,9	70,0	42,0
96	»	»	»	»	»	»	64,0	38,3	68,0	40,8	71,5	42,9
98	»	»	»	»	»	»	65,3	39,2	69,6	41,6	73,0	43,8
100	»	»	»	»	»	»	66,7	40 0	70,9	42,5	74,5	44,7
102	»	»	»	»	»	»	68,1	40,8	72,3	43,4	76.0	45,6
104	»	»	»	»	»	»	69,5	41,6	73,8	44,2	77,5	46,5
106	»	»	»	»	»	»	70,8	42,5	75,2	45,1	79,0	47,4
108	»	»	»	»	»	»	»	»	76,7	46,0	80,5	48,3
110	»	»	»	»	»	»	»	»	78,1	46.8	82,0	49,2
112	»	»	»	»	»	»	»	»	79,6	47,7	83,5	50,1
114	»	»	»	»	»	»	»	»	81,0	48,6	85,0	51,0
116	»	»	»	»	»	»	»	»	82,5	49,5	86,5	51,9
118	»	»	»	»	»	»	»	»	83,9	50,3	88,0	52,8
120	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	89,5	53,7

v = cent. cubes de crème.
n = divisions du crémomètre.

2° Dans le crémomètre ou l'éprouvette à robinet inférieur, on introduit 250^{cc} de lait et 4^{cc} de solution ammoniaco-sodée mesurés à 15°; on mélange intimement, on ferme avec un obturateur en verre et l'on abandonne pendant 12 à 24 heures dans une étuve chauffée à 40°; après ce laps de temps, on mesure la hauteur de la crème.

3° On soutire par le robinet le lactosérum séparé de la crème (ou on enlève la crème avec une cuiller), on le laisse refroidir jusqu'à 15° et l'on en prend exactement la densité à cette température, sinon on pourrait encore recourir au tableau de correction de Quévenne pour le lait écrémé.

TABLEAU N° 2. — **Mouillage d'un lait moyen.**

Lactosérum moyen, 1 litre. *Extrait*, 96^{gr},5. *Mat. grasses*, 0^{gr},50. *Densité à* 15°, 1036,4.

DENSITÉ du lactosérum à + 15°	EXTRAIT A 100° de 1 litre de lactosérum	MOUILLAGE p. 100 en volume	DENSITÉ du lactosérum à + 15°	EXTRAIT A 100° de 1 litre de lactosérum	MOUILLAGE p. 100 en volume
1000 +	gr.		1000 +	gr.	
36,5	96,5	0,0	21,5	57,0	41,0
36,0	95,4	1,1	21,0	55,7	42,3
35,5	94,1	2,5	20,5	54,3	43,7
35,0	92,8	3,8	20,0	53,0	45,1
34,5	91,4	5,3	19,5	51,7	46,4
34,0	90,1	6,6	19,0	50,4	47,8
33,5	88,8	8,0	18,5	49,0	49,2
33,0	87,5	9,4	18,0	47,7	50,6
32,5	86,1	10,8	17,5	46,4	51,9
32,0	84,8	12,1	17,0	45,1	53,3
31,5	83,7	13,5	16,5	43,7	54,7
31,0	82,2	14,9	16,0	42,4	56,1
30,5	80,8	16,2	15,5	41,1	57,4
30,0	79,5	17,6	15,0	39,8	58,8
29,5	78,2	19,0	14,5	38,4	60,2
29,0	76,9	20,4	14,0	37,1	61,6
28,5	75,5	21,7	13,5	35,8	62,9
28,0	74,2	23,1	13,0	34,5	64,3
27,5	72,9	24,5	12,5	33,1	65,7
27,0	71,6	25,9	12,0	31,8	67,1
26,5	70,2	27,2	11,5	30,5	68,4
26,0	68,9	28,6	11,0	29,2	69,8
25,5	67,6	30,0	10,5	27,8	71,2
25,0	66,3	31,4	10,0	26,5	72,5
24,5	64,9	32,7	9,5	25,2	73,9
24,0	63,6	34,1	9,0	23,9	75,3
23,5	62,3	35,5	8,5	22,5	76,7
23,0	61,0	36,8	8.0	21,2	78,0
22,5	59,6	38,2	7,5	19,9	79,4
22,0	58,3	39,6	7,0	18,6	80,8

Calcul des résultats. — 1° *Ecrémage.* — Étant donnée la quantité de crème séparée de 250^{cc} de lait, on se reporte aux tableaux de l'auteur construits empiriquement, qui donnent immédiatement la quantité de beurre par litre de lait non mouillé ou mouillé (tableau n° 1), ce qui est indiqué par la diminution de densité du lactosérum (tableau n° 2), tous résultats calculés en fonction du volume de la crème.

TABLEAU N° 3. — Poids de l'extrait contenu dans un litre de lait en fonction du beurre et de la densité à 15° du lait pur ou mouillé.

DENSITÉ du lait à 15°	BEURRE	14 gr.	16 gr.	18 gr.	20 gr.	22 gr.	24 gr.	26 gr.	28 gr.	30 gr.	32 gr.	34 gr.	36 gr.	38 gr.	40 gr.	42 gr.	44 gr.	46 gr.	48 gr.	50 gr.	52 gr.	54 gr.	56 gr.	58 gr.	60 gr.
1015	Poids de l'extrait à 100° de 1 litre de lait pur ou mouillé.	56,1	58,2	60,3	62,5	64,6	66,7	68,8	70,9	73,1	75,2	77,3	79,4	81,5	83,7	85,8	87,9	90,0	92,1	94,3	96,4	98,5	100,6	102,7	104,9
1016		58,8	61,0	63,1	65,2	67,3	69,4	71,6	73,7	75,8	77,9	80,0	82,2	84,3	86,4	88,5	90.6	92,8	94,9	97,0	99,1	101,2	103,4	105,5	107,6
1017		61,6	63,7	65,0	68,0	70,1	72,2	74,3	76,4	78,6	80,7	82,8	84,9	87.0	89,2	91,3	93,4	95,5	97,6	99,8	101,9	104,0	106,1	108,2	110,4
1018		64,3	66,5	68,6	70,7	72,8	74,9	77,1	79,2	81,3	83,4	85,5	87,7	89,8	91,9	94,0	96,1	98,3	100,4	102,5	104,6	106,7	108,9	111,0	113,1
1019		67,1	69,2	71,9	73,5	75,6	77,7	79,8	81,9	84,1	86,2	88,3	90,4	92,5	94,7	96,8	98,9	101,0	103,0	105,3	107,4	109,5	111,6	113,7	115,9
1020		69,8	72,0	74,1	76,2	78,3	80,4	82,6	84,7	86,8	88,9	91,0	93,2	95,3	97,4	99,5	101,6	103,8	105,9	108,0	110,1	112,2	114,4	116,5	118,6
1021		72,6	74,7	76,8	79,0	81,1	83,2	85,3	87,4	89,6	91,7	93,8	95,9	98,0	100,2	102,3	104,4	106,5	108,6	110,8	112,9	115,0	117,1	119,2	121,4
1022		75,3	77,5	79,7	81,7	83,8	85,9	88,1	90,2	91,3	94,4	96,5	98,7	100,8	102,9	105,0	107,1	109,3	111,4	113,5	115,6	117,7	119,9	122,0	124,1
1023		78,1	80,2	82,3	84,5	86,6	88,7	90,8	92,9	95,1	97,2	99,3	101,4	103,5	105,7	107,8	109,9	112,0	114,1	116,3	118,4	120,5	122,6	124,7	126,9
1024		80,8	83,8	85,1	87,2	89,3	91,4	93,6	95,7	97,8	99,9	102,0	104,2	106,3	108,4	110,5	112,6	114,8	116,9	119,0	121,1	123,2	125,4	127,5	129,6
1025		83,6	85,7	87,9	90,0	92,1	94,2	96,3	98,4	100,6	102,7	104,8	106,9	109,0	111,2	113,3	115,4	117,5	119,6	121,8	123,9	126,0	128,1	130,2	132,4
1026		86,3	88,5	90,6	92,7	94,8	96,9	99,1	101,2	103,3	105,4	107,5	109,7	111,8	113,9	116,0	118,1	120,3	122,4	124,5	126,6	128,7	130,9	133,0	135,1
1027		89,1	91,2	93,3	95,5	97,6	99,7	101,8	103,9	106,1	108,2	110,3	112,4	114,5	116,7	118,8	120,9	123,0	125,1	127,3	129,4	131,5	133,6	135,7	137,9
1028		91,8	94,0	96,1	98,2	100,3	102,4	104,6	106,7	108,8	110,9	113,0	115,2	117,3	119,4	121,5	123,6	125,8	127,9	130,0	132,1	134,2	136,4	138,5	140,6
1029		94,6	96,7	98,8	101,0	103,1	105,2	107,3	109,4	111,6	113,7	115,8	117,9	120,0	122,2	124,3	126,4	128,5	130,6	132,8	134,9	137,0	139,1	141,2	143,4
1030		97,3	99,5	101,6	103,7	105,8	107,9	110,1	112,2	114,3	116,4	118,5	120,7	122,8	124,9	127,0	129,1	131,3	133,4	135,5	137,6	139,7	141,9	144,0	146,1
1031		100,1	102,2	104,3	106,5	108,6	110,7	112,8	114,9	117,1	119,2	121,3	123,4	125,7	127,7	129,8	131,9	134,0	136,1	138,3	140,4	142,5	144,6	146,7	148,9
1032		102,8	105,0	107,1	109,2	111,3	113,4	115,6	117,7	119,8	121,9	124,0	126,2	128,3	130,4	132,5	134,6	136,8	138,9	141,0	143,1	145,2	147,4	149,5	151,6
1033		105,6	107,7	109,8	112,0	114,1	116,2	118,3	120.4	122,6	124,7	126.8	128,9	131,0	133,2	135,3	137,4	139,5	141,6	143,8	145,9	148,0	150,1	152,2	154,4
1034		108,3	110,5	112,7	114.7	116.8	118,9	121,1	123,2	125,3	127,4	129,5	131,7	133,8	135,9	138,0	140,1	142,3	144,4	146,5	148,6	150,7	152,9	155,0	157,1
1035		111,1	113,2	115,3	117,5	119,6	121,7	123,8	125,9	128,1	130,2	132,3	134,4	136,5	138,7	140 8	142,9	145,0	147,1	149,3	151,4	153,5	155,6	157,7	159,9
1036		113,8	116,0	118,1	120,2	122,3	124,4	126,6	128,7	130,8	132,9	135,0	137,2	139,3	141,4	143,5	145,6	147,8	149,9	152,0	154,1	156,2	158,4	160,5	162,6
1037		116,6	118,7	120,8	123,0	125,1	127,2	129,3	131,4	133,6	135,7	137.8	139,9	142,0	144,2	146,3	148,4	150,5	152,6	154,8	156,9	159,0	161,1	163,2	165,4
1038		119,3	121,5	123,6	125,7	127,8	129,9	132,1	134,2	136 3	138,4	140,5	142,7	144,8	146,9	149,0	151,1	153,3	155,4	157,5	159,6	161,7	163,9	166,0	168,9
1039		122,1	124,2	126,3	128,5	130,6	131,7	134,8	136,9	139,1	141,2	143,3	145,4	147,5	149,7	151,8	153,9	156,0	158,1	160,3	162,4	165,5	166,6	168,7	170,9
1040		124,8	127,0	129,1	131,2	133,3	135,4	137,6	139,7	141,8	149,3	146,0	148,2	150,3	152,4	154,5	156,6	158,8	160,9	163,0	165,1	167,2	169,4	171,5	173,6

Si l'on admet avec le Dr Quesneville qu'un lait pur moyen contient 38gr,5 de beurre par litre, la différence constatée entre ce chiffre et le résultat donné par un lait représentera la quantité de beurre enlevée par l'écrémage.

2° *Mouillage.* — La densité à 15° du lactosérum d'un lait moyen est de 1036,4; un résultat inférieur devra être attribué au mouillage illicite du produit examiné, et le tableau n° 2 donnera encore immédiatement la proportion pour 100 d'eau ajoutée au lait primitif.

3° *Extrait.* — Le tableau n° 3 permettra en outre de trouver rapidement le poids de l'extrait d'un litre de lait en fonction du poids de beurre, calculé à l'aide du volume de crème et de la densité du lactosérum.

Remarque. — 1° L'auteur du procédé dont nous venons de donner les points essentiels insiste avec raison sur l'avantage que présente sa méthode, comparée à l'analyse chimique complète, telle qu'on la pratique actuellement. En effet, l'analyse chimique fait bien connaître la constitution du lait; elle donne exactement les poids du beurre, des matières albuminoïdes, de la lactose et des sels, mais elle ne donne aucun renseignement immédiat et précis sur le mouillage et sur l'écrémage. En somme, la méthode du Dr Quesneville offre bien des points de similitude avec celle du Dr Müller, dont elle reproduit les traits essentiels; mais elle s'en distingue par sa rigueur scientifique beaucoup plus approchée, ce qui est dû à la très heureuse modification apportée au procédé de séparation de la crème et à la recherche de « caractéristiques » qui ont servi de point de départ au calcul des tableaux donnés par l'auteur.

2° Nous avons appliqué la méthode du Dr Quesneville à un grand nombre de laits moyens, de pureté certaine, provenant de quatre étables renfermant de 33 à 38 têtes de bétail. La densité du lactosérum de ces divers échantillons a été de 1037,5 avec des oscillations de quelques dixièmes en deçà et au delà; il en résulte que les résultats calculés d'après le tableau relatif au mouillage seraient un peu trop faibles pour Nancy. En outre, les déterminations de l'écrémage et du mouillage, faites sur des mélanges, écrémés dans des proportions calculées directement et additionnés d'eau, ne se sont jamais écartées de la vérité de plus de 3 p. 100 et généralement en moins, c'est-à-dire que pour des laits mouillés ou écrémés dans la proportion de 10, 20 ou 30 p. 100, les résultats fournis par le procédé précédent ont été de 7 à 11, 17 à 22, 27 à 32 p. 100, soit une erreur moyenne de 5 p. 100; en d'autres termes, les chiffres que donne la méthode de Quesneville sont passibles d'une erreur dont nous avons trouvé le maximum égal à 5 p. 100, et qu'en retranchant ce 5 p. 100 des indications obtenues, on est en droit d'affirmer comme exact et minimum le degré de mouillage et d'écrémage restant (Garnier).

6. ANALYSE DU LAIT PAR LA PESÉE.

Aux nombreuses méthodes proposées pour l'analyse pondérale du lait (1), il convient aujourd'hui de substituer le procédé imaginé par le Dr Adam (2), qui

(1) Hoppe-Seyler, *Analyse chimique appliquée à la physiologie*, trad. française, p. 485 et suiv.; Gorup-Besanez, *Chimie physiologique*, trad. française, 1880, t. II, p. 593; *Documents du laboratoire municipal de Paris*, 1885, p. 322.

(2) Dosage pondéral et volumétrique du beurre, *Journ. de pharm. et de chim.*, 1881.

présente l'immense avantage de rendre très simple et très exacte la séparation des divers éléments constitutifs de ce liquide, et de n'exiger que 20 centimètres cubes de lait.

A. Procédé du galactotimètre d'Adam (1).

Principe. — Quand on agite et mélange intimement du lait avec une solution alcoolico-éthérée d'ammoniaque, puis qu'on laisse reposer, le liquide se sépare en deux couches : l'une supérieure, transparente et limpide renfermant le beurre en solution éthérée; l'autre inférieure, un peu opaline contenant en solution aqueuse, outre la lactose et les sels, les matières albuminoïdes sous forme d'albuminates alcalins complètement précipitables à froid par l'acide acétique sans excès.

Réactifs. — 1° Solution aqueuse d'acide acétique cristallisable à 15 p. 100.

2° Solution alcoolico-éthérée ammoniacale, obtenue d'après la formule suivante :

Alcool à 90°.	833 centim. cubes	100 volumes
Ammoniaque du Codex.	30 —	
Eau	Q. s. pour faire 1 litre	
Éther pur à 65°.		110 —

3° De l'eau distillée et de l'éther pur.

Appareil. — Le *galactotimètre* d'Adam est formé de deux boules en verre superposées, au-dessus d'un tube étroit et fermé en bas par un robinet. Le volume compris entre ce robinet et l'étranglement séparatif des deux boules est de 10 centimètres cubes. La boule supérieure est marquée vers son milieu d'un trait; l'espace compris entre ce trait et le robinet jauge 32 centimètres cubes. L'orifice supérieur de l'appareil est fermé par un bon bouchon de liège taillé en biseau.

Manuel opératoire. — On introduit dans l'appareil 10cc de lait en faisant monter le liquide par aspiration à travers le robinet jusqu'au trait marqué 10cc; on verse par l'ouverture supérieure 22cc de liqueur ammoniaco-éthérée, jusqu'au trait 32, on bouche hermétiquement et on retourne de façon à faire passer peu à peu le lait dans la grosse boule en agitant constamment pour obtenir un liquide bien homogène et des parois bien nettes. Un excès de réactif n'a pas d'inconvénient, et se trouve même indiqué lorsqu'on a affaire à un lait riche en caséine, ce que l'on reconnaît à l'opacité du liquide qui doit être opalin et translucide.

L'appareil est placé sur une éprouvette et abandonné au repos pendant cinq minutes, au bout desquelles le liquide s'est séparé en deux couches, l'une supérieure limpide contenant le beurre, l'autre inférieure contenant tous les autres principes.

Pour éliminer le lait qui obstrue la clef du robinet et la portion effilée située en dessous, on débouche l'appareil et l'on entr'ouvre avec précaution le robinet;

(1) Adam, *J. de Ph. et de Chim.*, 1881.

le lait plus dense que le liquide intérieur est déplacé par lui sans s'y mélanger.

Lorsque la séparation est achevée, on soutire à un demi-centimètre cube près le liquide inférieur dans un petit vase de bohême, on verse de l'eau distillée jusqu'au trait 32 en la faisant couler doucement le long des parois de l'appareil que l'on tourne sur lui-même, on laisse encore reposer cinq minutes, puis on soutire exactement l'eau de lavage que l'on réunit à la première liqueur du vase de bohême.

Dosage du beurre. — La solution éthéro-alcoolique de beurre qui est restée dans le galactotimètre, débarrassée de l'eau de lavage, est versée par le robinet dans une capsule tarée; on rince l'appareil à deux reprises avec 3 ou 4^{cc} d'éther en faisant participer le bouchon au lavage et l'on réunit les liquides dans la capsule. On laisse ensuite la majeure partie de l'éther s'évaporer à la température ordinaire, puis on dessèche au bain-marie et finalement à l'étuve de Gay-Lussac à 100°. L'augmentation du poids de la capsule représente le beurre des 10 centimètres cubes de lait.

Dosage de la caséine et des matières albuminoïdes. — La solution aqueuse des principes autres que le beurre est traitée par 2^{cc} d'acide acétique à 15 p. 100, et le mélange vivement agité avec une baguette en verre jusqu'à séparation des flocons de caséine. On couvre et on abandonne jusqu'à complet éclaircissement du liquide; on réunit alors le coagulum sur un filtre taré; on lave avec de l'eau chaude, de façon à éliminer tous les éléments solubles; on exprime le filtre entre des feuilles de papier à filtre; on dessèche à l'étuve à 100° et l'on pèse. On obtient ainsi les matières albuminoïdes contenues dans les 10^{cc} de lait.

Dosage de la lactose. — Les eaux mères de précipitation de la caséine réunies aux eaux de lavage sont concentrées par évaporation et ramenées à 100 centimètres cubes dans lesquels on dose la lactose par la liqueur de Barreswil.

On pourrait encore évaporer complètement le liquide dans une capsule de platine, peser, incinérer et déduire par différence, après une nouvelle pesée, le poids de la lactose détruite.

Dosage des cendres. — Dans l'opération qui précède, le résidu de la capsule, après incinération de la lactose, représente les cendres des 10^{cc} de lait.

Dosage de l'extrait sec et des cendres. — On verse dans une capsule de platine 10^{cc} de lait qu'on additionne de deux gouttes d'acide acétique cristallisable; on chauffe au bain-marie en agitant avec une baguette de verre jusqu'à coagulum et l'on évapore jusqu'à consistance de pâte ferme; on retire la capsule et l'on triture le résidu avec la baguette, de manière à obtenir une poudre grossière dont on achève la dessiccation au bain-marie ou à l'étuve à 80°. L'extrait se présente sous forme d'une masse blanche poreuse qu'on pèse après refroidissement sous une cloche à acide sulfurique. Le résidu incinéré donne enfin le poids des cendres.

M. Marchand de Fécamp dessèche le lait à 85°, le laboratoire municipal de Paris et M. Lajoux de Reims à 95°. A ces températures inférieures à 100°, la dessiccation de l'extrait se fait dans les meilleures conditions et avec aussi peu d'altération que possible, ce qui n'est plus réalisé aux températures de 100° (Boussingault), 110° (Filhol et Joly), 120° (Doyère).

Remarques. — 1° Au lieu de l'appareil construit par Alvergniat et qui est assez onéreux à cause de sa graduation, nous nous servons couramment d'un appareil tout semblable mais non gradué, et de pipettes pour mesurer le lait et le réactif éthéro-ammoniacal. Nous avons constaté que l'emploi d'entonnoir à boule était défectueux, parce que le mélange rapide et d'un seul coup du lait et du réactif fournit presque toujours un coagulum de caséine très difficile à redissoudre. Grâce à l'étranglement qui existe entre les deux boules de l'appareil d'Adam, quand on retourne ce dernier, le lait s'écoule lentement dans le réactif en excès et, par une agitation continue, le mélange s'effectue bien sans aucune coagulation.

2° Quand on concentre les eaux mères de précipitation de la caséine pour y doser la lactose, il se forme presque toujours un léger coagulum d'albumine, correspondant à peu près à 0,5 ou 0,8 gramme par litre de lait. Il y a donc là une cause d'erreur, il est vrai peu importante, mais que l'on peut éviter en portant le liquide dans lequel on a précipité la caséine par l'acide acétique à la température de 80 ou 90° soit au bain-marie, soit à l'étuve, de façon à coaguler exactement toutes les matières albuminoïdes avant de les recueillir sur le filtre taré.

M. Lajoux (1) se basant sur ce que : 1° la précipitation de la caséine par l'acide acétique est une opération incertaine, dépendant de la dilution de la liqueur et de la quantité d'acide employée; 2° le lavage trop prolongé du coagulum peut déterminer la solubilité d'une partie de la caséine sous l'influence de l'eau elle-même et des microbes (caséine colloïdale de M. Duclaux, caséine demi-solubilisée M. Lajoux), dit qu'il est préférable de doser en bloc les albuminoïdes du lait (caséine albumine et lactoprotéine), et que le meilleur procédé consiste à les doser par différence, c'est-à-dire à retrancher du poids de l'extrait la somme des poids des autres principes du lait déterminés aussi exactement que possible.

3° Nous avons comparé les résultats du procédé d'Adam à ceux que donnent les anciennes méthodes d'analyse du lait par la pesée et particulièrement celle de Hoppe-Seyler. Presque toujours les poids de caséine et d'albumine donnés par le premier ont été très légèrement inférieurs à ceux du dosage spécial par la méthode ancienne. Nous venons de donner l'explication de cette divergence qui n'a d'ailleurs jamais dépassé $0^{gr},8$ par litre de lait. Pour le beurre il y a eu toujours une différence variant de zéro à $1^{gr},5$ par litre de lait, tantôt en plus, tantôt en moins; elle ne doit donc pas être attribuée au procédé qui est bon, mais aux manipulations elles-mêmes et rentre dans les erreurs inhérentes à toute analyse un peu délicate (Garnier).

4° Des diverses méthodes proposées pour l'analyse pondérale du lait et basées sur la coagulation des matières albuminoïdes par l'acide acétique (Vernois et Becquerel, Hoppe-Seyler, Gerber), aucune n'est applicable au lait de femme dont la caséine n'est pas directement et complètement coagulée par cet acide. Il n'en est plus de même du procédé Adam qui donne de très bons résultats, mais à la condition de laisser reposer le lactosérum ammoniacal débarrassé du beurre, après addition de la liqueur acétique, pendant quelques heures dans

(1) Lajoux, *Du lait de vache normal et pathologique*. Reims, 1886.

un endroit chaud. Dans ces conditions, le liquide filtré dans lequel on dose la lactose ne renferme que des traces de matières albuminoïdes qu'on recueille, comme pour le lait de vache, en portant le liquide à 100° (Garnier).

On peut encore, pour le lait de femme, doser la caséine en se basant sur sa précipitation par le sulfate de magnésium. La solution alcaline de caséine et de lactose, donnée par l'appareil d'Adam, est neutralisée exactement par l'acide acétique dilué, puis saturée à froid par du sulfate de magnésium. Le précipité est recueilli sur un filtre taré, lavé avec une solution aqueuse saturée du même sel, pour entraîner les éléments solubles, lactose et sels, desséché à 105° pour rendre la caséine insoluble, puis lavé à l'eau distillée jusqu'à ce que le liquide ne renferme plus de sulfate. On dessèche de nouveau le filtre qui retient le caséine et l'on pèse. Les eaux de lavage du filtre, soumises à la coction, abandonnent l'albumine qui peut se trouver dans le lait et dont on recueille les flocons sur un nouveau filtre taré pour en faire la détermination pondérale suivant les procédés habituels (p. 84). Cette méthode, qui n'est qu'une légère modification de celles de MM. Tolmatscheff et Hoppe-Seyler, donne de bons résultats.

B. **Dosage séparé de la caséine et de l'albumine.**

Procédé de Hoppe-Seyler. — 1° *Caséine.* — 20^{cc} de lait sont étendus avec 300^{cc} d'eau, le mélange est traité par de l'acide acétique dilué jusqu'à formation d'un précipité floconneux épais, puis par un courant d'acide carbonique prolongé pendant un quart d'heure ou une demi-heure, et enfin abandonné au repos pendant douze heures. On recueille sur un filtre taré le coagulum de caséine et de beurre, on lave avec soin, et l'on dessèche à 110°. L'augmentation de poids du filtre, multipliée par 50, donne la quantité de caséine et de matières grasses par litre. En retranchant de ce résultat le poids du beurre obtenu par telle autre méthode spéciale qu'on choisira, il reste celui de la caséine seule.

2° *Albumine.* — Le liquide filtré de l'opération précédente est porté à l'ébullition. L'albumine se coagule; on la recueille sur un filtre taré, on lave, on sèche à 100° et l'on pèse.

C. **Dosage de la caséine et de l'albumine dans le lait de femme.**

Le lait de femme préalablement étendu, puis traité par l'acide acétique et l'acide carbonique ne donne pas de précipité floconneux semblable à celui qu'on obtient avec le lait de vache ou de chèvre, mais une masse gélatineuse difficile à filtrer. Hoppe-Seyler recommande tout spécialement la méthode spéciale qui suit :

1° *Matières albuminoïdes totales.* — On traite 20^{cc} de lait par 80^{cc} d'alcool fort à froid, on laisse reposer quelques heures, on jette sur filtre, puis on lave à 60 p. 100 afin d'enlever les sels, les corps extractifs et une partie de la graisse; on épuise le résidu par l'éther qui élimine la totalité des corps gras dans un extracteur de Gerber ou de Soxhlet; on dessèche le résidu, on le pèse, puis on l'incinère pour défalquer du poids total celui des cendres, et l'on obtient par différence la totalité des matières albuminoïdes.

2° *Albumine.* — On sature 20^{cc} de lait avec du sulfate de magnésie cristallisé, on ajoute ensuite 100^{cc} de solution saturée de ce sel; on filtre pour séparer la caséine coagulée et on lave le filtre avec la solution saturée de sulfate. On fait

bouillir le liquide filtré et l'on recueille le coagulum d'albumine sur un petit filtre taré, on lave à l'eau, puis à l'alcool, on sèche et l'on pèse, puis on incinère et l'on pèse de nouveau les cendres qu'on défalque du poids total pour avoir l'albumine seule. En retranchant le poids de l'albumine du poids des matières protéïques fournies par la première opération, on obtient par différence celui de la caséine.

7. RECHERCHES PARTICULIÈRES.

Recherche des sulfates. — Le lait normal ne renferme que des traces de sulfates, en dehors des cas de purgation au sel de Glauber ou de Sedlitz. Ce caractère peut mettre sur la voie d'une falsification par mouillage, quand cette opération a été effectuée avec de l'eau séléniteuse, ce qui arrive fréquemment avec les eaux de puits. Pour rechercher les sulfates, on évapore 50^{cc} de lait dans une capsule de platine, on chauffe au rouge jusqu'à production de charbon, on épuise le résidu par de l'eau, puis on continue d'après les indications données précédemment pour l'analyse des cendres (voir p. 207).

Recherche du bicarbonate de soude. — Au lieu de précipiter simplement le lait par l'alcool et de traiter le résidu de l'évaporation du filtratum par un acide, pour constater le dégagement d'acide carbonique, il est préférable de calciner le produit de l'évaporation de 50^{cc} de lait, d'épuiser le charbon par de l'eau, d'évaporer la solution aqueuse et de doser l'alcalinité de l'extrait avec une liqueur titrée acide, en notant que le lait normal renferme des traces de carbonate de potassium (2,50 d'acide carbonique par 100 de cendres dans le lait de vache d'après Weber).

La méthode suivante due à Hilger (1) est bien plus rapide. On mélange 10^{cc} de lait et 10^{cc} d'alcool et l'on ajoute quelques gouttes d'acide rosolique à 1 p. 100. Le lait pur prend une coloration jaune brunâtre; le lait alcalinisé, une teinte plus ou moins rouge rosé. On reconnaît ainsi avec la plus grande certitude une addition de 0,1 p. 100 de bicarbonate de soude et avec un peu d'habitude jusqu'à 0,05 p. 100 de ce composé.

Observation générale. — La composition du lait de vache varie avec les conditions de stabulation, d'alimentation, avec l'âge, l'espèce et l'époque de lactation des animaux, enfin avec la saison. Ces influences si diverses sont moins sensibles quand on examine le lait moyen résultant du mélange du produit de la traite de toutes les vaches d'une étable, et d'autant moins que le nombre de ces vaches est plus grand. Si donc l'on doit examiner le lait d'un animal unique ou le mélange provenant d'un nombre restreint de têtes de bétail, il faudra toujours, avant de conclure, dans les cas douteux, comparer les résultats obtenus à ceux de l'analyse d'un produit homogène provenant d'une traite totale effectuée en présence du chimiste lui-même. Au contraire, s'il s'agit d'évaluer la richesse moyenne d'un lait originaire d'une étable très garnie, il suffira presque toujours de comparer les résultats obtenus à ceux qu'auront donnés des expériences préliminaires et répétées, faites sur le lait moyen de plusieurs grands marcaireries de la même région.

Il résulte d'expériences encore inédites de M. Lajoux, professeur à l'École de

(1) Emil Pfeiffer, *Analyse der Milch*, Wiesbaden, 1887.

médecine et de M. Charlier, vétérinaire de Reims, que l'extirpation des ovaires de la vache influe singulièrement sur la qualité du lait et augmente notablement sa richesse en beurre.

Le tableau qui suit donne les moyennes adoptées par divers chimistes et obtenues d'après la règle que nous venons d'établir.

Moyennes diverses de composition du lait de vaches par litre.

	BOUCHARDAT	DICTIONNAIRE de Wurtz	BOUDET	LABORATOIRE municipal de Paris	ALLEMAGNE (moyenne de 300 analyses)	GARNIER (Nancy)
Densité à 15°	1.033	1.031	1.033	1.033	»	1.032,6
Crème	»	»	»	10,00	»	10,15
Beurre par litre	38,59	40,50	40,00	40,00	36,60	40,50
Matières albuminoïdes	37,72	36,00	»	36,00	37,60	34,00
Lactose	50,00	55.00	52,70	52,70	48,20	52,00
Sels	7,00	4,00	»	6,00	7,00	7,30
Extrait	133,31	135,50	130,00	134,70	129,40	133.80
Eau	899,69	895,50	903,00	898,30	»	898,00

8. ANALYSE DE LAITS PATHOLOGIQUES.

Nous empruntons au rapport annuel d'hygiène de la ville de Reims pour l'année 1885 un travail complet de M. Lajoux, professeur à l'École de médecine de cette ville, qui indique la variation des divers principes constitutifs à la suite d'affections diverses.

Analyses de laits de vaches malades.

NATURE de LA MALADIE	MATIÈRES fixes à 95°	BEURRE	MATIÈRES albuminoïdes	LACTOSE	SELS	OBSERVATIONS
Fièvre aphteuse	115,60	36,50	23,92	48,82	6,30	
Id.	148,40	50,50	33,43	56,87	7,60	
Péripneumonie	98,70	24,20	43,01	8,80	8,80	
Mammite simple	99,00	9,50	32,43	50,57	7,30	Mamelle malade.
Id.	148,80	58.90	22.09	61,71	6,10	Mam. saine de la vache précéd.
Mammite double	113,80	17,10	30,69	60,01	6,00	Vaches de provenances diverses.
Id.	115,60	15,90	33,47	59,53	6,70	
Id.	111,60	13,60	30,94	61.46	5,60	
Id.	114,80	13,10	36,52	58,08	7,10	
Mammite	155,09	46,10	72,71	30,49	6,70	Mamelles de la même vache plus ou moins malades.
Id.	123,20	25,00	40,40	51,30	6,50	
Id.	134,00	25,50	53,06	18,89	6,60	
Id.	119,00	29,20	30,16	52,24	6,40	
Fièvre vitulaire	166,10	3,36	132,14	3,36	8,20	2 jours après le part.
Id.	122,20	36,50	27,43	52,27	6.00	8 jours après le part.
Vaches saines.						
Moyennes	125,07	35.51	49.96	33,02	6,58	
Richesse maxima	136,30	41,80	54,93	38.48	7.80	
Richesse minima	112,60	30,20	40,17	30,00	4,70	

On voit, à l'inspection de ce tableau, que les vaches atteintes de mammite simple fournissent généralement un lait renfermant une faible quantité de beurre.

Dans les cas de mammite, on voit que la mamelle saine remplace en quelque sorte la mamelle malade au point de vue de la richesse du lait en beurre, car la première en fournit 58,90 et la seconde 9,50, soit en moyenne 34,20, quantité très rapprochée de la moyenne indiquée plus bas.

Dans les laits suivants fournis par les trayons d'une même vache, un fait analogue se produit, puisque la moyenne des quatre analyses 46,10, 25,00, 25,50, 29,20, c'est-à-dire 31,45 est encore supérieure à la richesse minima de la même étable.

Il n'est pas sans intérêt de mettre en regard des tableaux précédents quelques résultats d'analyses de lait de diverses provenances et obtenus dans des conditions spéciales d'alimentation.

ORIGINE	MATIÈRES fixes à 95°	BEURRE	MATIÈRES albuminoïdes	LACTOSE	SELS
Banlieue de Paris. 86 échantillons (1). . . .	136,67	42,23	33,80	50,66	
Vaches nourries aux drèches (2). . . . , . . .	131,10	40,96	31,25	49,39	6,50
Vaches sans drèches (2).	128,70	40,09	33,60	48,81	6,20
Étables de Reims (Lajoux).	125,07	35,51	33,02	49,96	6,58
Fermes des environs de Paris (Adam) (2). .	135,70	42,00	33,30	52,80	7,60

(1) *Laboratoire municipal de Paris*, 1882, p. 250.
(2) *Revue d'hygiène et de police sanitaire*, 20 mai 1883.
(3) *Laboratoire municipal de Paris*, 1885, p. 297.

9. ALTÉRATIONS PATHOLOGIQUES DU LAIT.

Outre les variations que le lait peut éprouver dans la proportionnalité de ses éléments normaux essentiels, il peut acquérir des propriétés nouvelles par suite de l'introduction dans sa constitution d'un ou de plusieurs éléments anormaux; c'est ainsi qu'on peut y trouver, par les procédés appropriés, des éléments minéraux, des composés organiques, des produits odorants, des corps organisés d'origine pathologique, des éléments chromogènes étrangers.

Les principes minéraux qu'on a rencontrés dans le lait proviennent des vases dans lesquels on l'a conservé : cuivre, plomb, zinc, ou d'une absorption médicamenteuse par le tube digestif ou par voie hypodermique : iodures, bromures, arsenic, antimoine, bismuth, plomb, mercure, zinc, fer.

Parmi les principes organiques se trouvent soit des agents thérapeutiques, tels que morphine et alcaloïdes, soit des produits pathologiques : urée, hémoglobine, matières colorantes biliaires, mucine, fibrine coagulée.

Certains végétaux odorants mélangés aux aliments communiquent leur odeur au lait : tels sont les crucifères, les ombellifères et les synanthérées ; l'absinthe lui donne son amertume, la gratiole ses propriétés purgatives, le tithymale son âcreté.

Enfin, comme corps organisés, il peut contenir des globules de pus, des globules de sang (lait rose, Lepage), des ferments chromogènes tels que le vibrio cyanogenus (lait bleu), le vibrio xanthogenus (lait jaune). Tous ces éléments seront facilement reconnus au microscope, il en sera de même des germes ou bacilles des diverses maladies tels que le bacille de la tuberculose, si tant est qu'ils passent réellement dans le lait.

§ II. — ANALYSE DE LA SALIVE ET DES PRODUITS BUCCAUX.

1. COMPOSITION DE LA SALIVE.

Le mélange des produits de sécrétion des glandes salivaires et de la muqueuse buccale auquel on donne le nom de salive mixte contient :

1° *Des principes constitutifs normaux : eau, mucine, albumine, matières extractives diverses*, solubles en partie dans l'eau et dans l'alcool, *ptyaline, pepsine* (1), *corps gras, sulfocyanate de potassium*, sels *inorganiques* (chlorures de sodium et de potassium, sulfate de potassium, phosphates alcalino-terreux, phosphates alcalins et phosphate terreux, nitrites alcalins).

2° *Des principes anormaux ou pathologiques : urée, acide urique* (2), *leucine, glucose, matières colorantes biliaires, acide lactique, éléments organisés, microbes* et *bacilles.*

2. PROPRIÉTÉS CHIMIQUES ET ANALYSE QUALITATIVE.

Chauffée au bain-marie bouillant, la salive se trouble, et ne s'éclaircit pas après addition d'acide azotique.

La salive de la glande sous-maxillaire additionnée d'une grande quantité d'eau et traitée par un courant d'acide carbonique fournit un précipité floconneux de matières albuminoïdes qui se redissout après agitation au contact de l'air.

La salive filtrée précipite par l'alcool, le tannin, l'acétate neutre et le sous-acétate de plomb, le sublimé corrosif et le nitrate mercureux. L'acide acétique, le cyanure jaune, les acides chlorhydrique et sulfurique, la potasse, l'ammoniaque et l'alun ne donnent lieu à aucune réaction caractéristique.

Le chlorure ferrique la colore en rouge en raison du sulfocyanate qui y est contenu. L'acide iodique mélangé d'empois d'amidon la colore en bleu. *Solera* a reconnu que cette réaction était d'une sensibilité extrême et qu'elle permettait de déceler 0,0000004 de sulfocyanate.

Or, comme d'après cet auteur, le sulfocyanate des laboratoires se comporte de même et que les autres principes contenus dans la salive, ainsi que la ptyaline et le mucus donnent des résultats négatifs, il est hors de doute que c'est uniquement à ce sel qu'il faut attribuer la réaction.

(1) Munk, *Verhandl. d. phys. Ges. z. Berlin*, 1876; — *Maly Thier Chemie*, 1876, p. 270.
(2) Boucheron, *Comptes rendus*, 1881.

La salive humaine parotidienne pure donne la coloration la plus intense, tandis que la salive sous-maxillaire pure ne fournit qu'une teinte très faible. Chez le chien la salive mixte ainsi que la salive parotidienne ne redissout l'acide iodique que faiblement; la salive sous-maxillaire est complètement inactive (1).

Boettger (2) a montré, il y a fort longtemps, que la salive se colorait en bleu au contact de la teinture de gaïac et d'une solution étendue de sulfate de cuivre.

Un mélange d'iodure de potassium, d'amidon et d'eau oxygénée bleuit également la salive fraîche, mais la coloration est moins prononcée quand la salive renferme une plus forte proportion de sulfocyanate.

Lorsqu'on ajoute à de la salive un peu d'iodure de potassium, quelques gouttes d'acide sulfurique très dilué et de l'empois d'amidon, on obtient une coloration bleue qui est due à la présence des nitrites alcalins (Schoenbein) (3).

La salive mixte transforme l'amidon en dextrine et en glucose, mais non d'une manière constante. La vitesse d'écoulement du liquide, sa composition et sa température, sont autant de facteurs qui peuvent influencer la rapidité de cette transformation.

La matière glycogène soumise à l'action de la salive se transforme en glucose de la même manière que l'amidon.

Les modifications qu'éprouvent ces corps sont occasionnées par la présence d'un ferment diastasique qui se trouve dans la salive mixte et dans les glandes sous-maxillaire et parotidienne.

La ptyaline constitue un ensemble de matières muqueuses et albuminoïdes précipitables par l'alcool, le chlorure mercurique et l'acétate triplombique. Elle est encore incomplètement étudiée au point de vue chimique.

3. ANALYSE QUANTITATIVE.

A. Substances inorganiques.

Nous n'avons rien de particulier à mentionner relativement au dosage des chlorures, sulfates et phosphates alcalins ou alcalino-terreux. La détermination de ces sels s'effectue comme d'habitude.

Les *nitrites* peuvent se doser au moyen du réactif de Tromsdorff, par la méthode colorimétrique de comparaison, basée sur l'emploi de solutions types contenant un poids déterminé de sel.

Enfin les *sulfocyanates* seuls méritent de fixer un instant notre attention. Pour apprécier la quantité de sulfocyanate alcalin on peut indistinctement suivre l'un ou l'autre des procédés décrits ci-dessous :

Procédé Munk (4). — On évapore à siccité une certaine quantité de salive, on reprend le résidu par l'alcool, on filtre en vue d'éliminer la mucine et les principes albuminoïdes, on évapore la liqueur filtrée et l'on y ajoute de l'azotate

(1) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1878, p. 236.
(2) *Zeitschr. f. Anal. Chem.*, t. XI, p. 350.
(3) *Journ. f. Prakt. Chemie*, t. LXXXVI, p. 151.
(4) *Arch. f. Pathol. Anal.*, t. LXIX, p. 350.

d'argent additionné d'un peu d'acide azotique. On obtient de la sorte un précipité qu'on lave, filtre, dessèche à l'étuve à 100° et que l'on mélange ensuite avec de la soude caustique et du nitre. On fait fondre, on reprend la masse par de l'eau aiguisée d'acide chlorhydrique, on ajoute du chlorure de baryum et l'on obtient du sulfate de baryte dont le poids sert à calculer celui du soufre contenu dans la salive sous forme de sulfocyanate d'après l'équation :

$$\frac{So^4Ba}{CNSH} = \frac{p}{x} \text{ ou bien } x = 0{,}2532\,p$$

puisque 1 p. de sulfate de baryum équivaut à 0,2532 d'acide sulfocyanhydrique.

Procédé Hammerbacher (1). — Après évaporation de la salive à siccité, on ajoute de l'acide acétique pour précipiter la mucine et les éléments organisés (épithélium). On filtre, on réduit le liquide qui passe à un petit volume et on le traite par de l'alcool à 95°. La solution alcoolique est évaporée à son tour puis soumise à l'action oxydante d'un mélange de chlorate de potasse et d'acide chlorydrique. En ajoutant à la solution ainsi préparée du chlorure de baryum, on obtient du sulfate avec lequel on procède comme ci-dessus.

Procédé Solera (2). — On ajoute à de la salive fraîche ou ancienne, filtrée ou non filtrée, une solution d'acide iodique et un peu d'empois d'amidon étendu. On obtient ainsi une coloration bleue plus ou moins intense qui donne par comparaison la quantité d'acide mise en liberté.

Procédé Hoppe-Seyler. — On dissout 0gr,05 de sulfocyanate de potassium pur et sec dans une certaine quantité d'eau, on y ajoute du chlorure ferrique de manière à obtenir le maximum de la coloration rouge et l'on mesure le volume du liquide. On ajoute d'autre part le même sel de fer, en même temps qu'un peu d'acide chlorhydrique, à un volume déterminé de salive jusqu'à production de la teinte rouge plus ou moins intense et l'on agite ce mélange. En versant quelques gouttes de la solution type dans une augette à faces parallèles, placée à côté d'une autre de même grandeur, contenant la salive colorée et en ajoutant un volume déterminé d'eau distillée dans la première de façon à obtenir une égalité de teinte pour les deux liquides, on parvient, sans difficulté, à évaluer par comparaison la proportion de sulfocyanate contenu dans la salive.

Forwick (3) (de Londres) a employé récemment cette méthode colorimétrique pour l'examen clinique de la salive dans une foule d'affections diverses. Quoique approximative seulement, cette méthode donne néanmoins des résultats satisfaisants.

B. Substances organiques.

α. Ferment diastasique.

Pour rechercher si une salive jouit de la propriété saccharifiante, on commence par préparer un empois d'amidon que l'on mélange avec le 1/10 de son poids de salive. Au bout de quelques minutes ou d'un quart d'heure, on prélève une

(1) *Zeitschr. f. Physiol. Chemie*, t. V, p. 302-308.
(2) *Jahresb. f. Thier Chemie*, t. VII, p. 256.
(3) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1884, p. 275.

certaine quantité de matière, on l'examine à l'aide du réactif cupro-potassique et l'on continue ces opérations pendant un certain temps. Dès que l'une des prises d'essai indique la production d'un précipité jaune ou rougeâtre, on peut affirmer qu'il y a eu transformation.

Pour doser la quantité de sucre, on précipite le mélange d'amidon et de salive par de l'alcool, on évapore la solution filtrée et l'on reprend le résidu par de l'eau. Soit v le volume de la solution aqueuse. On en prélève une quantité déterminée et on l'ajoute à un volume connu de liqueur titrée de Barreswil, 5 ou 10 centimètres cubes. Après cette opération préliminaire, on fait bouillir une nouvelle quantité de la solution aqueuse avec quelques gouttes d'acide sulfurique dilué; on neutralise avec du carbonate de soude, on ajoute la solution à 5 ou 10 autres centimètres cubes de liqueur cuivrique et l'on mesure le volume du liquide employé qui, dans la seconde expérience est moindre que dans la première. En retranchant le plus petit nombre du plus grand, on peut calculer la proportion de maltose et de glucose contenus dans la solution. Ces nombres permettent donc d'apprécier la valeur saccharifiante de la salive.

En reprenant tout récemment ce sujet qui avait maintes fois déjà fixé l'attention des chimistes et en variant les conditions expérimentales, Chittenden et Herbert Smith ont trouvé :

1° Que le pouvoir diastasique de la salive était proportionnel à la quantité de ferment employé, à la condition que la dilution du liquide ne dépassât pas la limite 1/50 à 1/200;

2° La salive neutre agit mieux que la salive normalement alcaline;

3° La présence du carbonate de soude diminue le pouvoir diastasique de la salive;

4° La présence des peptones l'augmente au contraire;

5° Une trace d'acide chlorhydrique, 0,0005 à 0,0006 p. 100, l'augmente aussi; mais avec une dose beaucoup plus élevée, 0,003 p. 100, elle s'arrête à peu près complètement.

β. Mucine et éléments épithéliaux.

On évapore au bain-marie une quantité déterminée de salive presque à siccité, on ajoute un peu d'acide acétique afin de précipiter la mucine et les éléments épithéliaux. On jette le résidu sur un filtre taré, on lave à l'eau, on dessèche à 110° et l'on pèse.

4. ANALYSE DE LA SALIVE PATHOLOGIQUE.

La composition de la salive varie avec la nature des affections.

Dans les cas d'inflammation des gencives ou d'autres parties de la bouche, ou même des muqueuses nasales, on y trouve des globules rouges dont la présence se révèle soit au microscope, soit au spectroscope.

Chez les ictériques, on ne rencontre pas toujours les matières colorantes biliaires, malgré les assertions contraires de Wright.

(1) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1885, p. 259.

Dans un cas de néphrite parenchymateuse, Pouchet (1) a trouvé 2 à 5 p. 100 d'albumine.

La salive des diabétiques ne contient pas nécessairement du sucre. Elle est légèrement acide et doit cette réaction à la présence d'une petite quantité d'acide lactique.

Chez les dispepsiques et les fébricitants, elle a également une réaction acide. L'acidité peut être constatée en outre chez les phtisiques, les scrofuleux, les rachitiques, ainsi que chez les malades affectés d'ulcère rond de l'estomac.

Tout récemment M. Boucheron (2) y a reconnu la présence de l'acide urique dans des cas d'urémie. Le produit d'évaporation de la salive additionné d'acide azotique, puis traité dans les conditions convenables par l'ammoniaque, fournit la coloration violette caractéristique de la murexide.

On a signalé la présence de la leucine dans la salive des hystériques et celle de l'urée dans des cas de maladie de Bright. La salive des malades soumis à des traitements iodés et mercuriels renferme en grande quantité les éléments qui proviennent de l'inflammation des muqueuses buccale et pharyngienne.

Lors donc qu'il s'agit d'examiner la salive pathologique, il importe de fixer l'attention sur les divers composés que nous venons de signaler et d'en faire l'analyse qualitative et quantitative d'après les méthodes générales. Quant à la détermination de la nature des microbes ou bacilles (bacille courbe ou comma-bacille de Lerois (3), bacille de la scarlatine, bacille de la diphthérie, microbe de la salive normale (Pasteur), elle s'effectue d'après les détails techniques que nous indiquerons plus loin à l'article crachats.

5. CALCULS SALIVAIRES ET TARTRES DENTAIRES.

Les concrétions dures que l'on trouve quelquefois dans les glandes salivaires de l'homme et des mammifères renferment principalement des carbonate et phosphate de chaux, mélangés à une certaine quantité de matière muqueuse, albuminoïde et à des débris d'épithélium.

M. Magnier de la Source (4) a indiqué, il y a quelques années, l'analyse d'un calcul renfermant plus de 20 p. 100 de matières organiques insolubles dans l'eau et l'alcool. Ce calcul contenait, indépendamment des sels inorganiques qu'on trouve habituellement dans les concrétions de cette nature, des sulfates et chlorures alcalins, ainsi que du phosphate de magnésie.

Les résultats, obtenus par M. Hardy, relatifs à une analyse du même genre, s'accordent avec les précédents. Ceux de M. Richet se rapportent à un calcul provenant du canal de Warthon.

Ces concrétions sont ordinairement arrondies, très denses, blanc ou blanc-jaunâtre et peuvent atteindre plus de $0^m,04$ de long (5).

(1) *Compt. rend. de l'Acad. des Sciences.*, t. LXXXIX, p. 244.
(2) *Compt. rend.*, 1881.
(3) *Med. Times a gaz.*, 1883 et 1884.
(4) *Rev. mens. de méd. et de chirurg.*, avril 1878.
(5) Freudenburg, *Berl. Klin. Wachensch.*, 1877.

Les tartres dentaires constituent les dépôts qui recouvrent les dents de l'homme et des animaux domestiques très âgés. Ils contiennent les mêmes principes que les calculs ainsi que des éléments organisés, microbes et bacilles, dont la présence se révèle au microscope.

L'*analyse qualitative* et *quantitive* de ces dépôts peut s'effectuer comme suit : on commence par réduire une certaine quantité de matière en poudre fine qu'on traite par l'eau bouillante, on jette sur un filtre taré, on dessèche et l'on pèse de nouveau. On incinère la substance avec le filtre et l'on ajoute aux cendres, après refroidissement, un peu de carbonate d'ammoniaque dissout; on dessèche de nouveau, on porte au rouge et l'on pèse après refroidissement. On obtient de cette façon les matières solubles dans l'eau, ainsi que le poids des substances organiques et inorganiques.

Le dosage des acides carbonique, phosphorique et de la chaux contenus dans les cendres se termine d'après les méthodes décrites p. 289.

6. ANALYSE DES CRACHATS.

Les *principes normaux*, qu'on retrouve dans les crachats des catarrheux, sont ceux des produits de sécrétion des muqueuses nasales, savoir : de l'eau, de la mucine, de l'albumine, des principes extractifs et des sels inorganiques, tels que chlorures, phosphates et sulfates alcalins, phosphates terreux et des traces d'oxyde de fer. Nous n'avons rien de particulier à noter au sujet de l'analyse qualitative et quantitative de ces divers éléments.

Quant aux *principes anormaux* ou à ceux que l'on rencontre presque toujours dans les crachats pathologiques, leur étude, tant au point de vue chimique que microscopique, présente un intérêt tout particulier.

Les crachats jaunes ou rouges, expectorés pendant la période de l'hépatisation rouge chez les pneumoniques, renferment des globules sanguins.

Les crachats verts provenant des affections catarrhales des bronches, de la pneumonie chronique ou aiguë, compliquées d'ictère, doivent, sans aucun doute, leur coloration spéciale à un produit de décomposition de l'hémoglobine; leur étude est loin d'être faite d'une manière complète.

Les crachats gris perle des catarrhes chroniques contiennent des cellules pigmentaires d'une nature spéciale.

Ceux enfin des foyers inflammatoires des bronches ou du tissu pulmonaire peuvent renfermer de l'hématoïdine (1), de l'urée (2), de la leucine, de la tyrosine (3), de la matière glycogène (4), des peptones (5) et une matière sucrée (6), de la myéline (7), des éléments organisés, microbes ou bacilles, et enfin un ferment peptonique (8).

(1) R. Maly, *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1874, p. 472.
(2) Fleischer, *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1879, p. 361.
(3) Leyden, *Virchow's archiv.*, t. LXXIV, p. 414.
(4) Salomon, *Verhandl. d. Phys. Gesel. z. Berlin*, 1877.
(5) Pœhl, *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1882, p. 24.
(6) Pouchet, *Compt. rend. de l'Acad. des Sciences*, t. XCVI, p. 1506, 1601.
(7) Panaiza, *Deutsch. Arch. f. Klin. Med.*, t. XXVIII, p. 343.
(8) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1885, p. 501.

A. Analyse qualitative et quantitative des principes anormaux.

1. Recherche de l'urée.

Elle a été faite par R. Fleischer d'après les procédés ordinaires au moyen de 1.050^{cc} de crachats provenant d'un malade affecté à la fois de néphrite interstitielle, de pneumonie et d'œdème du poumon. La quantité d'urée, dosée sous forme de nitrate, était représentée par 2 grammes pour le produit d'expectoration de 24 heures.

2. Recherche de la leucine et de la tyrosine.

Leyden, Jaffé et Fischer, qui se sont occupés de l'étude de ces composés, les ont trouvés dans des crachats de bronchiques et de phtisiques, ainsi que dans des cas d'empyème du poumon. En traitant d'abord la matière par une petite quantité d'acide acétique afin d'éliminer les principes albuminoïdes, on précipite par le sous-acétate de plomb, on filtre, et l'on sépare l'excès de plomb par un courant d'hydrogène sulfuré. On concentre les liqueurs après séparation du sulfure de plomb, on épuise par l'alcool bouillant qui enlève la leucine et on reprend le reste par l'eau bouillante qui dissout la tyrosine. Les auteurs ont pu obtenir quelquefois la tyrosine sous forme de cristaux; mais, dans des cas moins favorables, ils ne sont parvenus à déceler sa présence que par les réactions de Hoffmann (nitrate mercurique et acide nitrique à chaud : coloration rose) et de Piria (acide sulfurique à chaud et perchlorure de fer : coloration violette).

3. Recherche de la matière glycogène.

En opérant d'après le procédé de Brücke, qui consiste à faire bouillir d'abord les crachats, à ajouter alternativement de l'iodure double de mercure et de potassium, puis de l'acide chlorhydrique et à précipiter ensuite le liquide filtré par de l'alcool, Salomon a obtenu de la matière glycogène qu'il a pu caractériser par son opalescence, par la coloration rouge au contact de l'iodure ioduré de potassium, et enfin par l'action sur la lumière polarisée et la réduction de la solution cupro-potassique après transformation préalable en glucose au moyen de l'acide chlorhydrique.

4. Recherche de la peptone.

Pœhl précipite les solutions filtrées par de l'acide phosphotungstique et de l'acide sulfurique; il lave le précipité avec de l'acide sulfurique à 5 p. 100 et neutralise par de la baryte. Il chauffe et filtre, puis ajoute du sulfate de cuivre; il sépare ensuite le sulfate de baryte et prend un volume déterminé du liquide filtré dont il compare l'intensité à un mélange de peptone en quantité déterminée, de soude caustique et de sulfate cuivrique et dose la première liqueur par comparaison de teinte avec la seconde.

L'auteur donne la préférence à ce mode opératoire sur celui qui consiste à

précipiter la matière par de l'acétate de plomb et de l'oxyde de plomb, puisque, dans ce dernier cas, les peptones elles-mêmes peuvent être précipitées et occasionner des pertes considérables s'élevant jusqu'à 63 p. 100.

5. Recherche de la matière sucrée.

M. Pouchet fait bouillir les crachats avec de l'eau aiguisée d'acide acétique, il filtre et neutralise exactement par de la baryte caustique, il filtre de nouveau et ajoute de l'acétate de plomb après ébullition. Le liquide filtré, additionné d'ammoniaque, est abandonné au repos pendant 24 heures.

Il se forme alors un précipité de la matière sucrée et de peptone. Après lavage à l'eau, on met le dépôt en suspension dans l'eau et on y fait passer un courant d'hydrogène sulfuré à chaud. Après filtration, on sépare les peptones à l'aide du tannin, on filtre, on concentre dans le vide, on précipite par l'alcool et l'on reprend de nouveau par l'eau. L'évaporation du liquide fournit un composé qui se présente sous forme de lamelles cristallines, hygroscopiques, solubles dans l'eau, insolubles dans l'alcool et l'éther. Ce corps nouveau n'est pas modifié en présence de l'iode; il réduit immédiatement à froid le nitrate d'argent, ce qui le distingue de la matière glycogène.

Il n'agit que difficilement à chaud sur la solution cupropotassique qu'il réduit au contraire instantanément après ébullition préalable avec l'acide chlorhydrique étendu.

Il dévie facilement le plan de polarisation à droite et donne naissance par fermentation aux acides lactique et butyrique.

6. Recherche du ferment peptonique.

Stolnikow (Petersb. med. Wochenschr. 1878) avait constaté dans les crachats gangrèneux et purulents la présence d'un ferment peptonique qu'il envisageait comme existant tout formé dans les tissus. Cette assertion toutefois a été combattue d'abord par Kühne et Filehne et plus tard par Escherlich (1). Les recherches nouvelles de ce savant confirment la première partie du travail de Stolnikow, mais en infirment la seconde : la trypsine, en effet, ne se présente pas dans les tissus, elle ne se produit que dans leurs déchets.

Pour déceler la présence du ferment, l'auteur avait fait des expériences comparatives avec des crachats de nature diverse, battus dans un mortier avec le quart de leur poids de glycérine, le tout additionné d'une même quantité de fibrine, de carbonate de soude à 1,8 p. 100 ou d'acide chlorhydrique à 0,1 p. 100 et maintenu au bain-marie entre 38 et 40°. La fibrine n'a été dissoute que dans les tubes à essai contenant les crachats de phtisiques au troisième degré. Ce n'est donc que dans des milieux contenant des tissus en voie de désorganisation, c'est-à-dire dans les crachats eux-mêmes que la trypsine prend naissance.

B. Analyse microscopique.

Indépendamment de ces composés qui peuvent se trouver accidentellement dans les crachats et dont l'analyse qualitative et quantitative n'est pas sans

(1) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1885, p. 501.

valeur pour le clinicien, il en est d'autres dont la constatation a une importance bien plus considérable : ce sont des éléments organisés d'une ténuité extrême. Complètement inconnus aux anciens, ces infiniment petits, répandus dans tout l'organisme et notamment dans les produits d'excrétion de la bouche, sont devenus, dans ces derniers temps, un objet d'études vraiment passionnées pour un grand nombre de savants. Aussi des physiologistes et des micrographes d'une haute autorité scientifique nous ont-ils indiqué la manière de les reconnaître. C'est grâce aux perfectionnements des instruments dont l'œil doit être armé, grâce également à la découverte des propriétés de certains colorants susceptibles de se fixer sur les tissus organiques, que l'on connaît actuellement des méthodes sûres et capables de les déceler.

Nous empruntons à l'excellent traité de bactériologie du professeur Crookshank, de Londres, traduit par Bergeaud, médecin-vétérinaire de Paris, les procédés techniques les plus employés.

1. PROCÉDÉ GÉNÉRAL DE RECHERCHES.

On frotte un couvre-objet sur un crachat, ou bien on porte, à l'aide d'une aiguille à cataracte, sur un couvre-objet, un fragment du crachat à examiner. On applique un second couvre-objet contre le premier de façon à réduire en couche mince la matière pressée entre les deux lames de verre; on les fait glisser l'un sur l'autre, puis enfin on les sépare, et chaque couvre-objet porte sur un côté une couche mince du crachat. On fait sécher. Après quelques minutes, on les prend avec des pinces, le côté préparé étant toujours dessus, et on les passe rapidement trois fois dans la flamme d'une lampe à alcool ou d'un bec de Bunsen. Pour les colorer, il faut verser deux ou trois gouttes d'une solution aqueuse de fuchsine ou de violet de méthyle sur la coupe et, après une minute ou deux, enlever l'excédant de matière colorante avec de l'eau distillée. On retourne le couvre-objet sur un porte-objet, on enlève l'excès d'eau avec du papier à filtre et l'on essuie la surface extérieure des verres; enfin on examine à un grossissement de 230 diamètres environ, et s'il est nécessaire d'avoir un plus fort grossissement, on place une gouttelette d'huile de cèdre sur le couvre-objet et l'on examine avec une lentille à immersion.

Si l'on veut faire une préparation permanente, il faut maintenir le couvre-objet par un coin avec le pouce et avec un linge doux, essuyer convenablement l'huile de cèdre; ensuite on verse de l'eau distillée sur la préparation, par un de ses bords, puis on place le couvre-objet debout sur un des côtés, sur une feuille de papier filtre que l'on a placée d'une certaine façon et l'on fait sécher. Quand la pièce est tout à fait sèche, on la monte avec du baume de Canada.

Quand il est nécessaire de colorer pour longtemps, on place une solution colorante dans un verre de montre, en laissant nager la préparation à la surface le côté préparé en dessous.

2. MÉTHODES SPÉCIALES DE PRÉPARATION.

Méthode de Koch. — On place les préparations sur un couvre-objet dans une solution alcoolique concentrée de :

Bleu de méthylène	1
Potasse à 10 p. 100	2
Eau distillée	200

Pendant 24 heures ou pendant 1 heure, si la solution est chauffée à 40°. On rince dans l'eau, on plonge dans une solution aqueuse de vésuvine pendant deux minutes, on rince de nouveau dans l'eau et l'on examine : ou après avoir rincé dans l'eau, on traite avec l'alcool, l'huile de girofle et le baume de Canada.

Méthode d'Ehrlich. — On laisse flotter les préparations sur couvre-objet dans un verre de montre contenant une solution de violet de gentiane ou de fuchsine, ajoutée à de l'eau d'aniline. On verse alors une solution alcoolique saturée de la teinture, jusqu'à ce qu'il se forme un commencement de précipité (10^{cc} d'eau d'aniline et 10 à 20 gouttes de la solution colorante). On laisse les couvre-objets dans la solution pendant une demi-heure environ; alors on les lave pendant quelques secondes dans l'acide nitrique fort (1 p. d'acide du commerce et 2 p. d'eau distillée), et l'on rince dans l'eau distillée. On procède alors à la double coloration avec la vésuvine ou de bleu de méthylène, on rince dans l'eau, on sèche et l'on conserve dans le baume de Canada.

Les coupes et les préparations sur couvre-objet peuvent être colorées par cette méthode comme l'a indiqué Koch (*Mittheil. a. d. Gesundheitsamte*, II, 1884) :

Solution alcoolique saturée de violet de méthyle ou fuchsine	11
Eau d'aniline	100
Alcool absolu	10

On laisse les préparations pendant 12 heures dans cette solution. On peut colorer plus rapidement les préparations sur couvre-objets en chauffant la solution.

Traiter les préparations avec une solution d'acide nitrique (1 p. d'acide du commerce et 3 p. d'eau distillée) pendant quelques secondes.

Laver dans l'alcool à 60 p. 100 pendant quelques minutes; les préparations sur couvre-objets n'ont besoin d'être rincées qu'un moment. On colore en double avec une solution diluée de vésuvine ou de bleu de méthylène pendant quelques minutes.

On lave encore dans l'alcool à 60 p. 100, puis on déshydrate dans l'alcool absolu.

On clarifie avec l'huile de cèdre et on monte au baume de Canada.

Méthode de Rindfleisch. — Préparer une solution composée de :

Solution alcoolique saturée de fuchsine	10 gouttes
Eau d'aniline	3^{gr},50

Verser dans un verre de montre et laisser flotter le couvre-objet; chauffer le verre de montre sur la flamme d'une lampe à alcool, jusqu'à ce que la vapeur se dégage. Éloigner de la flamme et laisser reposer pendant cinq minutes. Enlever le couvre-objet et le transporter pendant quelques secondes dans l'alcool acidulé (2 gouttes d'acide nitrique dans un verre de montre rempli d'alcool). Laver dans l'eau distillée, sécher et conserver dans le baume de Canada.

La double coloration, si elle est nécessaire, s'obtient avec le brun de Bismark ou le bleu de méthylène.

Méthode de Gibbes. — Colorer la préparation sur couvre-objet dans la solution suivante :

Magenta	2
Aniline	3
Alcool (D = 0,830)	20
Eau distillée	20

pendant quinze à vingt minutes. Laver dans une solution d'acide nitrique (1 p. d'acide et 3 p. d'eau distillée) jusqu'à ce que la couleur disparaisse. Rincer dans l'eau distillée. La double coloration s'obtient avec le bleu de méthylène, le vert d'iode ou la solution aqueuse de chrysoïdine ; on laisse les préparations en contact avec la couleur pendant cinq minutes. Laver dans l'eau distillée jusqu'à ce que la couleur ne disparaisse plus. Transporter dans l'alcool absolu pendant cinq minutes; sécher et conserver dans le baume de Canada. Laisser les coupes dans la teinture pendant une demi-heure, traiter avec l'acide nitrique et laver à l'eau distillée.

Transporter dans le bleu de méthylène jusqu'à coloration intense; laver de nouveau dans l'eau distillée et ensuite dans l'alcool faible. Passer dans l'alcool absolu et l'huile de girofle, et conserver dans le baume de Canada.

Nouvelle méthode de Gibbes. — Placer les préparations sur couvre-objets dans la solution à double coloration que l'on obtient de la façon suivante :

Chlorhydrate de rosaniline	2
Bleu de méthylène	1

Triturer dans un mortier de verre.

Dissoudre 3 p. d'aniline dans 15 p. d'alcool rectifié.

Ajouter doucement cette solution au premier mélange et additionner lentement 15 p. d'eau distillée. Conserver dans un flacon bien bouché.

On chauffe la solution ainsi préparée dans un tube et on la verse dans un verre de montre aussitôt que la vapeur se dégage. On y laisse séjourner les préparations pendant cinq minutes, puis on les lave dans l'alcool méthylique jusqu'à ce que la couleur ne disparaisse plus, on sèche à l'air ou sur une lampe à alcool, et on monte au baume de Canada. Si l'on ne chauffe pas la solution, on doit y laisser les couvre-objets plongés pendant une heure. Les coupes sont traitées d'après les mêmes principes, mais on doit les laisser dans la solution pendant plusieurs heures. On évite le plus possible la contraction des coupes par l'acide nitrique.

Méthode de Baumgarten. — On prépare une solution comme suit : laisser tomber 4 à 5 gouttes de solution alcoolique concentrée de violet de méthylène dans un petit verre de montre plein d'eau.

a) Colorer les coupes dans cette solution, les laver dans l'eau, et décolorer dans l'alcool absolu pendant cinq à dix minutes; ou bien, avant de traiter à l'alcool, plonger les coupes pendant cinq minutes dans une solution à moitié saturée de carbonate de potasse. Passer dans l'huile de girofle et monter dans une mixture de baume de Canada, sans chloroforme, et d'huile de girofle en quantités égales. Le but de cette opération est de différencier les bacilles tuber-

culeux des bacilles accidentels, attendu que les premiers sont graduellement décolorés par l'huile de girofle.

b) Les coupes colorées dans la solution indiquée ci-dessus sont placées pendant cinq minutes dans l'alcool, puis dans une solution concentrée de brun de Bismark dans une solution d'acide acétique à 1 p. 100. Au bout d'un certain temps, on passe à l'alcóol et à l'huile de girofle, puis on monte dans le baume de Canada.

Méthode de Frenkel. — La double coloration des préparations de crachats s'obtient rapidement par la méthode suivante : mettre dans 5[cc] d'eau d'aniline chauffée à l'ébullition, goutte à goutte et jusqu'à ce que se dessine une teinte opaline, une solution alcoolique concentrée de violet de méthyle ou de fuchsine. Laisser flotter les couvre-objets préparés, pendant deux minutes, dans la solution chauffée. Pour effectuer soit la double coloration, soit la décoloration, on place la préparation pendant une ou deux minutes dans une des solutions suivantes; pour les préparations colorées à la fuchsine, on emploie une solution saturée de bleu de méthylène dans une mixture de :

Alcool	50
Eau distillée	30
Acide nitrique	20

que l'on filtre avant de s'en servir; pour les préparations colorées dans le violet de méthyle, on prépare une solution saturée de vésuvine dans 70 p. d'alcool et 30 p. d'acide nitrique que l'on doit filtrer avant de l'employer.

Les coupes sont lavées dans l'eau ou dans l'alcool faiblement acidulé à 50 p. 100, puis séchées et montées à la manière ordinaire.

Méthode de Crookshank. — Quand les coupes sont colorées avec le violet de méthyle et le brun de Bismark par la méthode d'Ehrlich, d'après la marche indiquée ci-dessus par Koch, on peut avec avantage les plonger dans une solution alcoolique faible d'éosine, rincer dans l'alcool absolu pur, clarifier avec l'huile de girofle et monter dans le baume de Canada. On obtient ainsi trois colorations sur la préparation; les cellules géantes sont roses, leurs noyaux bruns et les bacilles se détachent très bien en bleu sur ce fond coloré.

Il nous paraît superflu de mulplifier ici l'exposé des méthodes opératoires d'un grand nombre d'autres expérimentateurs, puisque les précédentes peuvent servir de guide à ceux qui seraient tentés de les suivre.

7. ANALYSE DU MUCUS NASAL.

Les *principes normaux* excrétés par la muqueuse des fosses nasales consistent en une proportion relativement forte de mucine, ou corpuscules de mucus, en débris de cellules épithéliales, en 1 à 3 p. 100 de substances mal définies et rangées dans la catégorie des matières extractives, puis en 0,5 à 0,6 p. 100 de substances inorganiques.

Les *principes anormaux* qui résultent de l'inflammation de la muqueuse consistent en une substance albuminoïde précipitable par l'acide azotique, ainsi que par le mélange d'acide acétique et de cyanure jaune et en une augmentation

considérable de sels inorganiques. Chez les phtisiques et les vieux catarrheux, on trouve des cristaux de tyrosine et de leucine.

Le *dosage* de ces divers éléments se fait d'après les indications données à propos de l'analyse des sérosités en général (p. 191).

§ III. — ANALYSE DU SUC GASTRIQUE.

1. GÉNÉRALITÉS.

Le suc gastrique constitue un liquide clair ou opalescent, incolore, d'une saveur salée légèrement acide et d'une odeur aigrelette particulière.

Sa densité varie de 1,001 à 1,010.

Il ne renferme pas d'éléments organisés spéciaux, si ce n'est des cellules ou des débris de cellules pepsiques. On peut néanmoins y rencontrer des corpuscules de mucus, des épithéliums cylindriques et de petites granulations.

Sa composition dépend des éléments de la salive, de ceux du mucus et du produit de sécrétion des glandes pepsiques.

I. *Principes constitutifs normaux.* — Les principes constitutifs normaux sont de la *mucine* provenant du mucus des glandes stomacales; des *matières extractives* parmi lesquelles se trouve la *pepsine* soluble dans l'eau et constituant le véritable ferment de la digestion; des *peptones*, c'est-à-dire des produits de la digestion des matières albuminoïdes qui proviennent des aliments ou de la muqueuse de l'estomac; de petites quantités de *matières grasses*, des *sels inorganiques*, principalement des *chlorures de potassium*, de *sodium*, de *magnésium* et des traces *de fer*. Il ne renferme que de minimes proportions de *phosphates terreux*. Les *phosphates* et *sulfates alcalins* y font entièrement défaut.

Le suc gastrique du veau contient de la *leucine* et de la *tyrosine* (1).

Le suc gastrique normal de l'homme renferme en outre des *acides libres*, généralement après les repas ou à la suite d'excitations mécaniques sous l'influence de corps solides. L'*acide chlorhydrique* est un de ses principes constants, tandis que l'*acide lactique* ne s'y rencontre qu'à certains moments, ainsi que les *acides butyrique* et *acétique* quand le liquide stomacal renferme encore des produits de la digestion.

II. *Principes anormaux ou pathologiques.* — Les substances qui se trouvent rarement dans le suc gastrique ou dont on ne constate la présence qu'accidentellement sont : les *matières colorantes biliaires* et les *acides biliaires;* l'*urée*, dans les affections urémiques et après l'opération de la néphrotomie; le *chlorure d'ammonium* provenant sans aucun doute de l'action de l'acide chlorhydrique libre sur le carbonate d'ammonium qui a pu se produire après l'extirpation du rein ou dans des cas d'urémie; la *sarcine* à la suite d'affections stomacales.

(1) *Jahresb. f. Thier Chemie Maly*, 1878, p. 241.

2. PROPRIÉTÉS CHIMIQUES ET ANALYSE QUALITATIVE.

Le suc gastrique est toujours franchement *acide;* s'il est alcalin, la réaction doit être attribuée à des circonstances étrangères. Son acidité varie de 0,5 à 3,2 p. 1000.

Il ne se trouble pas à l'ébullition.

Les acides minéraux ne le précipitent pas, mais les carbonates alcalins donnent lieu à un faible précipité qui consiste principalement en sels calcaires mélangés à un peu de matière organique entraînée mécaniquement.

Le sublimé corrosif y fait naître un précipité renfermant une certaine quantité de pepsine.

Avec le nitrate d'argent, il se produit un précipité très volumineux formé principalement de chlorure d'argent, mais emprisonnant toujours de la matière organique.

Les sels de plomb produisent également un dépôt de chlorure qui entraîne une partie du ferment stomacal.

Ces divers précipités cependant, lavés convenablement à l'eau, abandonnent de nouveau la pepsine.

Le cyanure jaune, le sulfate de cuivre, le chlorure ferrique et l'alun ne précipitent pas le suc gastrique.

Avec l'alcool on obtient un précipité qui se redissout peu à peu dans l'eau. Cette liqueur additionnée de quelques gouttes d'acide chlorhydrique jouit d'un pouvoir digestif considérable.

Quand on concentre le suc gastrique, l'acide chlorhydrique s'évapore en même temps que l'eau; le résidu contient de nombreux cristaux de chlorure de sodium enchâssés dans une masse sirupeuse contenant généralement du lactate de sodium.

Acidité du suc gastrique.

Tout en s'accordant sur la réaction acide du suc gastrique, les auteurs ont attribué pendant fort longtemps cette acidité à des causes diverses, phosphate acide de chaux, acide chlorhydrique et acide lactique. Cependant le plus grand nombre des physiologistes admettent aujourd'hui qu'elle est due à l'acide chlorhydrique, et que l'acide lactique, dont la présence ne peut être niée, est le résultat d'une fermentation produite dans l'estomac aux dépens des composés sucrés.

Dans un travail récent relatif à l'examen des acides du suc gastrique pendant la digestion, question longuement étudiée déjà par ses savants prédécesseurs, Ewald (1) s'applique à faire ressortir les avantages de l'emploi de la tropéoline, du violet de gentiane et de méthyle, ainsi que d'un mélange de chlorure ferrique et de phénol pour la solution du problème.

Il fait d'abord remarquer : 1° que la tropéoline en solution alcoolique ou

(1) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1885, p. 286.

aqueuse, de couleur mordorée, prend une teinte rouge rubis ou brun rouge en présence des acides chlorhydrique et lactique libres;

2° Qu'elle se colore en jaune ou bien fournit un précipité de même couleur avec les phosphates neutres ou acides, ainsi qu'avec les lactates alcalins;

3° Que le violet de gentiane ou de méthyle devient bleu au contact de l'acide chlorhydrique et ne change pas en présence de l'acide lactique;

4° Que le chlorure ferrique additionné de phénol se décolore en présence de l'acide chlorhydrique et jaunit au contact de l'acide lactique libre ou des lactates.

Cela posé, on obtient, en versant la solution aqueuse ou alcoolique de tropéoline dans du suc gastrique, une coloration rouge ou jaune qui indique : dans le premier cas, ou bien la présence de l'acide chlorhydrique ou de l'acide lactique; dans le second, celle de phosphates neutres ou alcalins ou de lactates. Si le réactif ne change pas de couleur, il importe de rechercher la présence des acides gras volatils.

La coloration primitive est-elle rouge rubis après addition de la tropéoline et indique-t-elle par conséquent l'un ou l'autre des acides libres, chlorhydrique ou lactique, on ajoutera à une nouvelle portion de la liqueur à examiner du violet de gentiane ou de méthyle. Dans le cas où il se produit un changement de teinte et que la solution devient bleue, on a affaire à de l'acide chlorhydrique libre.

Si la couleur du violet de gentiane ne se modifie pas, on verse dans une nouvelle portion de la liqueur le mélange de chlorure ferrique et de phénol qui se décolore au contact de l'acide chlorhydrique et jaunit en présence de l'acide lactique libre ou d'un lactate.

Pour savoir, en définitive, si la liqueur primitive contient ou non de l'acide lactique libre ou un lactate, on la traite par de l'éther ; dans le cas où le véhicule ne dissout rien, la coloration jaune précédente proviendrait d'un lactate et non de l'acide lactique.

Le procédé analytique peut donc se résumer comme suit :

Suc gastrique + tropéoline.	Rouge rubis.	A. chlorhydr. ou a. lactique.	a.	Liqueur primitive + violet gentiane.	col. bleue.	A. chlorhydr.
					pas de col.	A. lactique ou lactates.
	Jaune.	Phosphates, lactates ou a. lactique.	b.	Liqueur primitive chlorure ferrique. + phénol.	Décoloré.	A. chlorhydr.
					Jaune.	A. lactique ou lactates.
	Pas de coloration.	Rechercher la présence des acides gras volatils.	c.	Liqueur primitive + éther, agiter, évaporer.	Partie soluble.	A. lact. libre.
					Rien de dissout.	Lactates.

Ewald a employé ce procédé pour étudier l'apparition des acides lactique et chlorhydrique dans le suc gastrique dans des conditions très variées d'alimentation, exclusivement azotée, hydrocarbonée ou mixte. Il a constaté, avec plus de précision qu'on ne l'avait fait jusqu'à présent, que, en suite d'un régime composé uniquement de viande, l'acide lactique apparaissait en premier lieu, et l'acide chlorhydrique plus tard seulement et que celui-ci enfin, après être resté

mélangé pendant un certain temps avec le premier, finissait, au bout de 3 heures, par constituer à lui seul l'acidité du suc gastrique.

Nous verrons cependant plus loin les objections qu'on a soulevées à propos de l'emploi de ce réactif pour le dosage de l'acide libre.

Toujours en quête de preuves nouvelles, on a proposé, il y a peu de temps (1), de rechercher l'acide chlorhydrique libre au moyen du réactif suivant qui doit être conservé à l'abri de la lumière :

Vanilline.	1gr.
Phloroglucine	2gr.
Alcool.	30gr.

En chauffant doucement le liquide auquel on ajoute ce réactif, il se produit une couleur rouge cramoisi, si ce liquide renferme de l'acide chlorhydrique, même dans la proportion de 0gr,05 p. 1000 ; il ne se produit aucune modification en présence de l'acide lactique.

L'emploi de ce réactif auquel on donne le nom de *Phloroglucine vanillique* ou *réactif de Günzburg*, a été recommandé par M. le profr Germain Sée, dans une communication faite par lui à l'Académie de médecine, dans la séance du 17 Janv. dernier et serait, paraît-il, à l'abri de toute critique. (*J. Ch. Ph.*, avril 1888.)

3. ANALYSE QUANTITATIVE.

Ce paragraphe sera consacré au dosage des principes constitutifs les plus importants du suc gastrique : acides libres et pepsine.

A. Dosage de l'acide chlorhydrique.

Procédé Rabuteau. — A la suite de discussions déjà anciennes, relatives à la nature et à la quantité du ou des acides libres contenus dans le suc gastrique, Rabuteau (1852) a imaginé le procédé suivant pour doser l'acide chlorhydrique libre.

Il ajoute au suc gastrique de la quinine fraîchement précipitée, évapore jusqu'à consistance sirupeuse et reprend la masse par du chloroforme, de la benzine ou de l'alcool amylique. La solution évaporée à siccité, reprise par l'eau, est traitée ensuite par une liqueur titrée de nitrate d'argent. Le dosage conduit à 2,5 d'acide chlorhydrique libre dans un litre de suc gastrique.

C. Schmidt avait trouvé 3 p. 1000.

Pour contrôler la valeur de son titrage, Rabuteau opère sur une autre partie du suc primitif qui avait servi à faire la première expérience, et la traite comme ci-dessus. Le sel de quinine repris par le chloroforme est évaporé à siccité et redissout par l'eau; la solution aqueuse additionnée d'acide sulfurique étendu, est agitée ensuite avec de l'éther. La solution éthérée évaporée ne fournit pas trace d'acide lactique.

Il s'ensuit donc que l'acide chlorhydrique se trouve à l'état libre dans le suc de l'estomac et que ce dernier ne contient pas d'acide lactique : résultat qui

(1) *Union pharmac.*, fév. 1888, p. 69.

s'accorde avec ceux que Braconnot, Proust, Lassaigne et C. Schmidt avaient signalés antérieurement.

Le suc gastrique qui avait servi à ces opérations provenait de chiens, restés à jeun depuis 24 heures, auxquels on avait fait avaler quelques tendons pour provoquer la sécrétion de la muqueuse gastrique et qui avaient été tués après section de la moelle.

Remarque. — L'expérience de Rabuteau est un argument puissant en faveur de la présence de l'acide chlorhydrique libre; mais pour être complète, elle demanderait à être répétée dans des conditions variées et ne pas rester limitée à l'examen d'animaux à jeun.

Procédé Reoch (1). — Elle repose sur la propriété que possèdent les acides inorganiques de décomposer le tartrate ferrico-potassique en présence du sulfocyanate d'ammonium et de donner naissance à du sulfocyanate de fer, tandis que les acides organiques ne provoquent pas de changement de couleur.

D'après cela, si l'addition du suc gastrique au mélange des deux sels fait apparaître une coloration rouge, celle-ci ne peut provenir que de la présence de l'acide chlorhydrique.

Pour le dosage de l'acide libre, on peut opérer par comparaison en employant une solution chlorhydrique d'un titre déterminé.

Remarque. — Le procédé ne peut servir que dans le cas où il s'agit de solutions qui ne renferment que de l'acide chlorhydrique. Mais quand on a affaire à des mélanges de cet acide avec des phosphates et des sels de fer, il se forme nécessairement du phosphate ferrique jaune et la couleur rouge du sulfocyanate de fer n'apparaît pas.

Procédé Ewald (2). — L'auteur se sert de violet d'aniline et de tropéoline qui, sous l'influence de quantités déterminées d'acide chlorhydrique libre, prennent des colorations particulières.

Le premier de ces réactifs devient bleu en présence de ClH à 1/1.000, et même quand la dilution atteint 1/2.000.

La tropéoline OO prend une coloration rouge rubis ou brun rouge quand on y ajoute de l'acide chlorhydrique aux mêmes degrés de dilution.

Le réactif peut donc, au dire de l'auteur, servir à des dosages colorimétriques par comparaison en employant simultanément un même volume de suc gastrique ou d'acide chlorhydrique d'un titre connu pour un volume déterminé de colorant.

Or, comme les autres acides, acétique, butyrique et lactique, qui peuvent se trouver dans le suc gastrique, n'agissent sur les réactifs qu'à des degrés de concentration beaucoup plus élevés, 20 p. 100 au moins, il s'ensuit que pour examiner si le mélange du liquide stomacal renferme ou non de l'acide chlorhydrique, il faut toujours ramener l'acidité totale à 1 ou à 0,5 p. 100. Si alors le réactif devient bleu, on peut en conclure que le suc gastrique renferme en tous cas de l'acide chlorhydrique (Reichmann) (3).

Remarque. — Le dosage de l'acide chlorhydrique libre ne peut pas s'effectuer

(1) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1877, p. 269.
(2) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1882, p. 250.
(3) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1884, p. 290.

à l'aide de ce procédé, parce que les colorations varient suivant la nature des liquides sur lesquels on opère.

Ainsi, par exemple, quand on ajoute de l'albumine ou de la peptone à une solution chlorhydrique teinte en rouge par de la tropéoline, on voit la teinte passer au jaune. Par conséquent, si le suc stomacal que l'on se propose d'examiner, tout en contenant de l'acide chlorhydrique libre, renfermait l'un ou l'autre de ces éléments, on ne verrait pas de changement de couleur en présence du réactif.

De plus une solution de pepsine, de peptone ou d'albumine, devient bleue en présence du violet de méthyle, sans addition préalable d'acide chlorhydrique.

La présence du sang empêche la réaction bleue de se produire. On ne pourrait donc pas employer cette méthode colorimétrique pour rechercher l'acide chlorhydrique dans le cas d'un suc gastrique pathologique.

La présence de la leucine et de la tyrosine empêche la coloration bleue du violet de méthyle (Ewaid) (1), assertion confirmée par Seemann (2).

Celle d'un phosphate acide entrave également les colorations rouge de la tropéoline et bleue du violet de méthyle (Kietz) (3).

Procédé Kietz (4). — Pour doser la quantité d'acide chlorhydrique contenu dans ce suc gastrique, l'auteur opère sur trois portions de liquide filtré, chacune de 25^{cc}.

Il acidifie légèrement la première par l'acide azotique et dose l'acide chlorhydrique par une solution de nitrate d'argent en présence du chromate de potasse.

La seconde est évaporée au bain-marie, reprise par l'eau et titrée au sel d'argent.

On neutralise la troisième, on évapore à siccité et l'on y détermine la quantité d'acide chlorhydrique.

L'expérience prouve qu'il y a identité de résultats relatifs à la teneur en acide chlorhydrique pour les essais 1 et 3. Mais on obtient un chiffre moins élevé pour l'essai 2.

Cette différence en moins tient à la volatilisation de l'acide chlorhydrique pendant l'évaporation. Elle se rapporte à l'acide chlorhydrique libre.

Remarque. — Quoique rigoureuse en apparence, cette méthode cependant est inférieure à celle de C. Schmidt que nous indiquerons plus loin.

Procédé Seemann (5). — On sature exactement le suc gastrique à l'aide d'une solution titrée de soude caustique au 1/10; on évapore à siccité et l'on calcine le résidu.

On redissout le résidu dans l'eau et l'on opère un deuxième titrage à l'aide de la solution sulfurique au 1/10. Cette opération permet d'évaluer la proportion d'acides organiques transformés en carbonates pendant l'incinération.

On retranche le nombre de centimètres cubes de la solution alcaline de la

(1) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1882, p. 251.
(2) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1882, p. 248.
(3) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1881, p. 276.
(4) *Inaugur. Dissert.*, Erlangen, 1880.
(5) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1882, p. 248.

première opération de celui des centimètres cubes de la solution acide de la seconde, et la différence indique la quantité d'acide chlorhydrique libre.

Remarque. — Ce dosage laisse à désirer puisque, d'une part, il y a perte de matière par suite de la volatilisation des chlorures alcalins et que, d'autre part, les sels à acides organiques contenus dans le liquide à examiner fournissent par leur incinération une augmentation d'alcalis.

De toutes les méthodes actuellement connues, il n'y en a aucune, au dire des hommes les plus autorisés, tels que Hoppe-Seyler et Gorup-Besanez, qui donne des résultats aussi nets que celle de C. Schmidt, quoiqu'elle date déjà d'une trentaine d'années.

Procédé Schmidt. — On prend un volume déterminé de suc gastrique bien filtré et on le traite en solution azotique par du nitrate d'argent afin de précipiter la totalité de l'acide chlorhydrique y contenu, tant sous forme de combinaison qu'à l'état libre. On chauffe de manière à rassembler le précipité, on filtre et on lave jusqu'à ce que les eaux de lavage ne soient plus troublées par l'acide chlorhydrique; on dessèche le précipité à l'étuve et l'on calcine avec le filtre. Il n'est pas inutile de rappeler ici les précautions à prendre pour le dosage du chlorure d'argent qui, chauffé et fondu dans un creuset de porcelaine, se réduit quelquefois et contient alors de l'argent métallique. La masse fondue refroidie doit être traitée par quelques gouttes d'acide azotique. Après addition d'un peu d'eau, on traite par une gouttelette ou deux d'acide chlorhydrique, on évapore dans le creuset avec précaution, puis on fond de nouveau le chlorure qui sert maintenant au dosage.

Cela fait, on évapore à siccité le liquide filtré dans une capsule en porcelaine et l'on incinère le résidu qui contient de la chaux, de la magnésie, de la potasse et de la soude, ainsi que les acides sulfurique et phosphorique combinés à ces bases. On dose ces divers éléments d'après les procédés habituels.

Il importe en outre d'effectuer le dosage de l'ammoniaque que le liquide peut contenir. A cet effet, on en sursature une quantité déterminée soit par de la baryte caustique ou de la magnésie, on distille et l'on reçoit les vapeurs alcalines dans une solution chlorhydrique. On précipite par du chlorure de platine et l'on dose le chloroplatinate obtenu d'après les prescriptions des auteurs.

Les opérations étant terminées, on rapporte par le calcul à 100^{cc} les poids des acides et des bases. On considère l'acide sulfurique comme combiné à la potasse et à la soude. Quant aux autres bases, chaux et magnésie, on admet qu'elles se trouvent dans les cendres sous forme de phosphates acides PMH^2O^4 et de chlorures. Le surplus de chlore non combiné aux métaux se rapporte alors à l'acide chlorhydrique libre.

Quoique très compliquée et longue, cette méthode est la seule qui conduise à un résultat certain.

Procédés Cahn et de Mehring (1). — De ces deux *procédés* tout récents, l'un est, pour ainsi dire, calqué sur celui de Rabuteau, car il consiste à saturer le suc gastrique par de la cinchonine et à procéder ensuite au dosage de ce sel.

(1) *Deutsch. Arch. f. Klin. Med.*, in *Journ. de pharm. d'Als.-Lorr.*, mai 1887.

Le second, facile à exécuter, comprend les opérations suivantes :

1) Distiller à feu nu 50^{cc} de suc gastrique filtré jusqu'à ce que les trois quarts du liquide aient passé; remplir une seconde fois le ballon jusqu'à 50^{cc} et opérer comme précédemment. Filtrer les liquides distillés et y effectuer le dosage des acides volatils à l'aide de la solution alcaline normale.

2) Agiter le résidu de chaque distillation avec 50^{cc} d'éther et répéter cinq fois cette opération. Distiller l'éther, reprendre le résidu par l'eau et titrer l'acide lactique y contenu à l'aide de la liqueur normale alcaline.

3) Traiter la couche inférieure de l'opération précédente, par la solution alcaline, pour avoir la quantité d'acide chlorhydrique libre qu'elle renferme.

La vérification de l'exactitude du procédé se fait en dosant directement au moyen de la solution alcaline une même quantité de suc gastrique que précédemment. Le nombre de centimètres cubes employés est égal à celui des opérations 1, 2, 3.

B. Dosage de la pepsine.

La pepsine constitue le ferment du suc gastrique capable d'opérer la digestion des matières albuminoïdes. Elle est soluble dans la glycérine et insoluble dans l'alcool. Elle n'est précipitée ni par l'acide acétique ni par un mélange d'acide acétique et de cyanure jaune, mais par l'acétate neutre de plomb.

Sa réaction caractéristique est la modification particulière qu'elle fait éprouver aux matières albuminoïdes en présence d'une faible proportion d'acide chlorhydrique; c'est elle qui sert de base aux procédés de dosage décrits ci-dessous.

Procédé Brücke. — On dissout un morceau d'albumine, de forme cubique, de dimension donnée, dans une solution chlorhydrique à 1 p. 100; on détermine le temps nécessaire pour opérer cette dissolution et l'on envisage comme unité la quantité de pepsine contenue dans ce liquide normal.

Cela fait, quand il s'agit de rechercher la quantité de pepsine dissoute dans un autre liquide plus chargé que le précédent, on en prend un volume déterminé, on l'étend d'eau acidulée à 1 p. 100 et l'on opère identiquement comme dans le premier cas. La comparaison des temps nécessaires à effectuer la dissolution de l'albumine permet d'évaluer la valeur de la pepsine.

Procédé Grünhagen. — L'auteur traite la fibrine du sang, parfaitement lavée à l'acide chlorhydrique à 2 p. 100 jusqu'à ce qu'elle se transforme en gelée de consistance épaisse. On l'exprime, puis on la divise en portions égales sur des filtres placés sur des entonnoirs, au-dessus d'éprouvettes à pied qu'on place dans des étuves chauffées entre 37 et 40°, et l'on verse sur la fibrine la pepsine à examiner. La rapidité avec laquelle s'effectue la dissolution de ces gelées, ainsi que leur vitesse d'écoulement à travers les filtres, indique le pouvoir digestif des liquides et partant la qualité plus ou moins bonne de la pepsine y contenue.

Procédé A. Petit (1). — A la suite d'une étude approfondie sur l'action digestive de la pepsine, à diverses températures, et en présence de quantités

(1) *Journ. de chimie et de pharm.*, 1880, t. I, p. 89.

variables d'acide, l'auteur indique le procédé opératoire suivant pour reconnaître la valeur d'une pepsine.

Prendre 25^{cc} d'un acide chlorhydrique à 3 p. 100, y ajouter 5 grammes de fibrine de mouton, blanche et fortement essorée, additionnée de quantités variables de pepsine allant de 0^{gr},10 à 0^{gr},60 dans plusieurs flacons. Chauffer à 50° et agiter toutes les demi-heures jusqu'à solution complète.

Une bonne pepsine ne devra plus donner de précipité par l'acide azotique après 12 heures de chauffe dans les flacons qui en contiennent de 25 à 30 centigrammes, et après 6 heures dans ceux qui renferment de 0^{gr},50 à 0^{gr},60.

C. **Pepsines et peptones commerciales.**

La pepsine introduite dans la thérapeutique française en 1854 par le Dr Corvisart et les peptones employées avec le plus grand succès dans le traitement des affections stomacales, ayant acquis une importance si considérable dans ces dernières années, nous ne pouvons manquer de donner ici quelques indications relatives à la provenance et au mode de préparation de ces substances en même temps qu'à la manière de reconnaître leur degré de pureté.

α. Propriétés et titrage des pepsines (1).

Pepsine anglaise. — Ce produit s'obtient par le raclage des estomacs de porc, de veau ou de mouton et en faisant dessécher le magma obtenu à une température de 35 à 40°.

Cette pepsine est insoluble. Elle doit transformer en produits solubles cinquante fois son poids d'albumine de l'œuf, cuite et réduite en pulpe fine.

Pepsine allemande. — *a.* On la prépare en traitant les estomacs des mêmes animaux que ci-dessus par une eau acidulée à l'acide sulfurique ou à l'acide phosphorique. On filtre et l'on traite le liquide par de l'eau de chaux. Il se forme un précipité de sulfate ou de phosphate de chaux mélangé à de la pepsine.

Le produit ainsi préparé est donc nécessairement impur.

b. Le commerce allemand fournit, en outre, sous la dénomination de pepsine, un produit qui ne mérite pas ce nom, puisqu'il ne constitue qu'un simple mélange de poudre de viande et d'amidon de légumineuses.

Pepsine américaine. — On fait macérer pendant plusieurs jours des estomacs de porc dans de l'eau acidulée à l'acide chlorhydrique, on filtre, on ajoute à la liqueur deux fois son poids de chlorure de sodium. Ensuite de cela, le liquide est devenu plus dense et laisse surnager la pepsine. On l'exprime, on lave et l'on mélange après dessiccation avec du sucre de lait.

Ce procédé ne donne qu'un faible rendement.

Procédés français. — Comme le Codex français ne donne pas de procédé de fabrication officiel de la pepsine, les produits varient avec le nom des industriels.

Petit traite les raclures d'estomacs, pendant quelques heures, par de l'eau

(1) *Nouveaux remèdes*, 1er juin 1886. Leçon du Dr Bardet.

alcoolisée à 4 p. 100. Il filtre et évapore. Cette pepsine se dissout entièrement dans l'eau.

Chassaing fait tremper la pulpe d'estomac dans de l'alcool ou de l'éther afin de coaguler le sang; il passe à travers un tamis fin, laisse égoutter le résidu et le reprend par l'eau tiède acidulée à l'acide chlorhydrique au 1/1000. Il filtre la solution et obtient un produit soluble dans l'eau et de bonne qualité.

Chappoteaut, au lieu d'éliminer le sang par la coagulation, prend les raclures de muqueuse stomacale, les dessèche dans un courant d'air et les réduit en poudre. Il traite par l'éther pour enlever les corps gras et dessèche une seconde fois. Le produit obtenu est de bonne qualité; il est soluble, mais il a toujours un aspect rougeâtre à cause du sang dont il n'a pas été débarrassé.

A ces marques spéciales s'en ajoute une quantité d'autres, mais les préparations de ces fabricants sont la reproduction plus ou moins fidèle de celles que nous venons de décrire.

Les pepsines présentent, au point de vue de leur aspect physique, diverses formes, connues dans le commerce français sous les noms de *pepsine en paillette*, produit jaune, en écailles demi-transparentes à odeur particulière; de *pepsine extractive*, plus ou moins foncée, généralement jaune de miel, à odeur un peu plus forte que la première, mais sans parfum putride; de *pepsine amylacée*, poudre blanche à odeur faible; de *pepsine saccharure* faite pour présenter la forme américaine, mais soluble, tandis que celle qui se fabrique en Amérique ne l'est pas; enfin de *pepsine liquide* obtenue par une solution de pepsine dans la glycérine et l'alcool faible.

La digestibilité des pepsines est évaluée d'après ce qu'on est convenu d'appeler leur *titre*, c'est-à-dire par la valeur numérique qui représente le poids de fibrine qu'elles sont capables, non de dissoudre, mais de peptoniser ou en d'autres termes de transformer en un produit soluble non précipitable par l'acide azotique.

Le Codex français prescrit le titre 20 pour la pepsine amylacée, cela veut dire que 20 grammes de fibrine doivent être peptonisés par 1 gramme de pepsine.

Ce titre peut s'élever jusqu'à 50, 60, 100 et même jusqu'à 1.000.

Certaines pepsines ne titrant que 4 ou 6 peuvent néanmoins dissoudre 50 ou 60 grammes de fibrine, mais cette particularité tient à ce que la dissolution de la fibrine est obtenue par l'addition frauduleuse d'un acide. Il ne s'agit dans ce cas que de dissolution et non de peptonisation.

Le *dosage* d'une pepsine ou, ce qui revient au même, son *titrage* s'effectue d'après le Codex de la manière suivante :

On met dans un petit flacon 10 grammes de fibrine de porc fraîchement essorée avec $0^{gr},60$ d'acide chlorhydrique, 60^{cc} d'eau distillée et $0^{gr},50$ de pepsine. On place le flacon dans une étuve à 50° pendant 6 heures et l'on agite de temps en temps. Au bout de ce temps, la peptonisation doit être complète, ou en d'autres termes, l'acide nitrique ne doit pas troubler la liqueur filtrée.

A ce procédé de dosage, qui est à peu près le même que celui de M. Petit, on peut substituer indifféremment ceux de Brücke ou de Grünhagen.

β. Peptones.

Les peptones constituent les produits ultimes de la digestion pepsique des matières albuminoïdes. La fibrine, l'albumine, la caséine et d'autres matières protéiques coagulées, soumises à une température de 37° environ à l'action du ferment pepsique de l'estomac, avec ou sans addition d'acide chlorhydrique très dilué, se transforment en effet en produits nouveaux qui ne jouissent plus des propriétés des albuminoïdes d'où ils dérivent.

Le ferment pepsique du pancréas mis en présence des mêmes matières albuminoïdes, dans les mêmes conditions opératoires, produit également des peptones qui présentent les plus grandes analogies avec les premières.

Les propriétés communes de ces produits sont : leur coagulabilité par l'alcool, leur solubilité dans l'eau, leur incoagulabilité par la chaleur et l'acide azotique, leur non précipitabilité par le cyanure jaune, l'acétate de plomb et l'alun.

Leurs différences résident principalement dans la variation de leur pouvoir rotatoire.

Adamkiewicz, Maly, Kühne, Defresne, Salkowsky, Strohmer, Kœnig et beaucoup d'autres ont indiqué la manière de préparer ces composés. Tantôt on se sert de pepsine de l'estomac et d'acide chlorhydrique dilué, tantôt de l'extrait glycériné du pancréas, tantôt enfin de papaïne et d'acide chlorhydrique dilué que l'on fait bouillir avec de la viande hachée sous pression. De ces trois modes différents de préparation, la première fournit le produit le plus agréable et en même temps le moins altérable.

Les peptones à la papaïne présentent toujours une odeur plus ou moins repoussante, due à la présence d'une trace d'un composé huileux qui agit comme anthelmintique; elles ne dissolvent du reste que peu de matière albuminoïde.

Des industriels en très grand nombre se sont empressés de livrer dans le commerce des peptones dont la composition varie considérablement, et au lieu d'imiter les sages prescriptions des savants pour arriver à la préparation de produits purs, ils ont cherché à y incorporer des matières étrangères : la gélatine, la glucose et la glycérine constituent les fraudes les plus usuelles.

1. Analyse qualitative des peptones.

M. Defresne, qui s'est beaucoup occupé en France de l'étude des peptones, insiste sur la nécessité de commencer par des essais préliminaires tendant à montrer la présence des matières ajoutées frauduleusement avant de procéder à leur dosage.

Il fait remarquer tout d'abord qu'on ne peut se servir ni de l'acide nitrique, ni du réactif de Millon, ni de l'alcool, ni du cynaure rouge, de l'acétate de plomb ou de l'alun, puisqu'en présence des réactifs, la gélatine se comporte absolument de la même manière que les peptones.

La liqueur de Barreswil agit d'une façon différente : elle donne avec les peptones pures une coloration rose, rouge, rouge-violet qu'un excès de réactif ramène au bleu, tandis qu'avec les peptones gélatinées la coloration reste bleue; mais il est facile de voir que l'on ne pourrait pas distinguer la fraude à l'aide de ce moyen.

Des expériences minutieuses ont fait connaître que 100 grammes d'une solution de peptone pure marquant 10° à l'aréomètre fournissent 17 grammes de matière solide et que, dans le cas de sophistication par la gélatine, la densité restant toujours à 12°, le produit d'évaporation pouvait s'élever à 33 grammes (Defresne) (1).

On a constaté également qu'une solution de peptone pouvait sans inconvénient être additionnée d'une forte proportion de sulfate de magnésie, tandis qu'une peptone fraudée par la gélatine était précipitée abondamment. Cette réaction différentielle conduit naturellement à une méthode de dosage pour le produit sophistiqué.

Les peptones glucosées se colorent en présence de l'eau iodée.

Les peptones glycérinées enfin cèdent la glycérine à un mélange d'alcool et d'éther.

2. Analyse quantitative des peptones.

Dans un travail très complet sur l'analyse quantitative des peptones, Kœnig (2) procède de la façon suivante pour le dosage de leurs principes constitutifs :

La quantité d'*eau* est déterminée d'après la perte de poids de la matière chauffée à l'étuve à 105°.

L'*azote total* s'obtient par calcination du résidu sec avec de la chaux sodée ou par décomposition à l'aide de l'anhydride sulfurique (Kjeldahl, voir p. 75) (3).

Pour doser les *corps gras*, on épuise la matière dans un appareil à déplacement continu au moyen de l'éther.

L'eau bouillante dissout les *matières albuminoïdes* solubles et la *peptone*.

En ajoutant au liquide de l'acétate ferrique, on obtient un précipité renfermant les matières albuminoïdes solubles (Schmidt-Mulheim). On dessèche, on traite par la chaux sodée et l'on détermine l'azote. Multipliant ensuite le nombre trouvé par 6,25, on obtient le poids correspondant des matières albuminoïdes. Quant à la peptone qui se trouve dans le liquide filtré après précipitation de la solution primitive par l'acétate ferrique, on la précipite à son tour par l'acide phosphotungstique, et après le dosage par la chaud sodée, on multiplie le nombre trouvé par 6,41.

Les *sels fixes* enfin s'obtiennent par incinération.

A l'aide de ce procédé opératoire, l'auteur arrive aux résultats suivants pour diverses peptones commerciales :

(1) *Journ. de chim. et de pharm.*, 1881, t. I, p. 203.

(2) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1885, p. 417.

(3) Sur la possibilité d'une application générale de la méthode de Kjeldahl, *Berliner Berichte*, t. XIX, p. 367 et p. 852.

PEPTONE	EAU	MATIÈRES organiques	AZOTE total	MATIÈRES albuminoïdes		PEPTONE	AUTRES matières azotées	CORPS gras	SELS fixes
				insolubles	solubles				
I	67,21	30,99	3,42	»	11,00	6,51	7,55	5,93	1,80
II	30,62	57,12	7,92	»	»	37,40	»	»	12,22
III	30,62	61,69	10,12	0,49	18,75	39,15	2,85	0,44	7,69
IV	43,04	49,65	7,44	1,02	16,25	24,04	7,06	1,21	7,31
V	32,42	63,75	9,01	traces	10,75	27,94	24,67	0,39	3,83

Quant aux peptones sophistiquées renfermant soit de la *gélatine*, de la *glucose* ou de la *glycérine*, Defresne (1) opère de la manière suivante pour déterminer la proportion de ces diverses substances :

Dosage de la gélatine. — On sature la peptone à chaud par du sulfate de magnésie. Si la matière contient de la gélatine, celle-ci remonte à la surface sous forme d'une masse élastique et peut être recueillie. Il faut avoir recours alors au dosage de l'azote ; le poids de l'azote dû à la gélatine, retranché de celui de l'azote total, donne un chiffre qui, multiplié par la constante 6,05, exprime le poids de peptone sèche et pure.

Nous ferons remarquer que les dosages de la peptone effectués par les divers auteurs ne s'accordent pas, puisque les multiples de l'azote trouvé varient de 6,05 à 6,41.

Le dosage d'une peptone, au point de vue de la richesse en gélatine, peut s'effectuer suivant Salkowsky (2), d'après la quantité de soufre contenu dans le produit. A cet effet, on opère sur la matière sèche, on calcine avec un mélange de nitre et de potasse caustique, on reprend par l'eau, on acidifie par l'acide chlorhydrique et l'on précipite par le chlorure de baryum.

Dosage de la glucose. — Quand l'essai préliminaire a fait reconnaître que le produit était glucosé, on ne peut pas se servir d'alcool pour arriver à la précipitation, car les résultats seraient erronés. Il faut avoir recours, comme dans le premier cas, au dosage de l'azote et multiplier comme ci-dessus par 6,05 pour avoir le poids de la peptone sèche.

Dosage de la glycérine. — On prend 10 grammes de peptone suspecte, on y verse 100 grammes d'alcool absolu et l'on agite, puis on verse 50 grammes d'éther et on laisse reposer pendant 3 heures. Au bout de ce temps, on décante avec soin. On dessèche le précipité à 100° sur un filtre taré et l'on rapporte le poids trouvé à 100 grammes de solution : opération qui fournit le poids de la peptone. Quant à la glycérine, il suffit d'évaporer la solution éthéro-alcoolique, pour l'obtenir presque entièrement pure.

Matières de vomissement.

La composition des matières de vomissement est très complexe. Elle comprend tout d'abord les produits de sécrétion des glandes pepsiques et muqueuses

(1) *Journ. de chim. et de pharm.*, 1881, t. II, p. 345.
(2) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1885, p. 388.

de l'estomac, ainsi que les liquides de l'œsophage, du pharynx et de la bouche, et contient par conséquent du *mucus de l'estomac,* du *suc gastrique*, des *mucosités de l'œsophage*, les *liquides parotidien* et *salivaire*. On y trouve en outre les produits de sécrétion de la partie supérieure de l'intestin grêle et tous ceux qui se rendent dans cette région, puis les contenta de l'estomac et de l'intestin grêle, mêlés à des matières alimentaires plus ou moins digérées.

Les principes chimiques qu'on y trouve communément sont donc indépendamment de ceux du mucus, du suc gastrique et de la salive, des *peptones*, de la *dextrine*, de la *glucose*, des acides gras volatils principalement les acides *acétique, propionique, butyrique* et *lactique*.

On y rencontre de plus les principes constitutifs de la bile : *acides biliaires* et *matières colorantes biliaires* à la suite de l'administration de vomitifs, d'affections urémiques ou de phlegmasies de diverse nature;

Puis les principes constitutifs du sang tels que l'*albumine*, la *fibrine*, l'*hémoglobine*, souvent aussi l'*hématine* quand l'épanchement sanguin présente l'aspect de marc de café.

Enfin, la présence de l'*urée* et de *carbonate d'ammoniaque* ont été signalés dans les cas de choléra et d'urémie. A côté de ces principes définis, révélés par l'analyse chimique, on trouve une quantité d'éléments organisés reconnaissables au microscope : tels que cellules épithéliales de toute nature, granulations amylacées et chlorophyliennes, débris de fibres musculaires et lisses, de fibres élastiques du tissu conjonctif, globules sanguins, globules de pus, des coagulums fibrineux, de la sarcine en grande quantité surtout dans les affections carcinomateuses de l'estomac et des ferments organisés.

Analyse qualitative des matières vomies.

Les divers principes contenus dans les matières de vomissement peuvent être décelés à l'aide des méthodes précédemment décrites à propos de l'analyse des sérosités en général. Nous n'avons donc rien de nouveau à ajouter et nous rappellerons seulement qu'il importe, dans chaque cas particulier, d'éliminer les composés dont la présence pourrait gêner la réaction de celui qu'on se propose de déterminer.

Recherche des peptones. — On précipite les matières par une solution de tannin. Après 24 heures de repos, on jette sur filtre le précipité obtenu et on le lave avec de l'eau additionnée, d'un peu de tannin et de sulfate de magnésie. On triture ensuite le composé insoluble avec une solution saturée d'eau de baryte, dans une capsule, et l'on chauffe. Après filtration du liquide encore chaud, on verse dans la solution quelques gouttes de sulfate de cuivre qui fait apparaître une coloration rouge ou violette dans le cas où la matière à analyser renferme des peptones (1).

On peut remplacer le tannin par du phosphotungstate de sodium additionné d'acide chlorhydrique. Il se produit un précipité qu'on filtre, lave à l'acide sulfurique à 5 p. 100 et mélange ensuite avec un excès d'hydrate de baryte comme précédemment.

(1) *Zeitschr. f. Phys. Chemie*, t. IV, p. 253.

La réaction du biuret s'achève alors comme ci-dessus.

Recherche de la glucose. — On commence par faire bouillir la matière avec quelques gouttes d'acide acétique, on filtre et l'on traite la solution filtrée par le réactif de Barreswil.

Recherche de l'urée. — On précipite le liquide à analyser par trois fois son volume d'alcool concentré, on jette sur filtre et on lave le coagulum avec de l'alcool. On évapore toutes les liqueurs au bain-marie et l'on reprend le résidu par de l'alcool absolu à froid. Le nouvel extrait est évaporé à une douce chaleur et le résidu repris par l'eau. On ajoute à cette solution de l'acétate triplombique tant qu'il se forme un précipité. On verse alors dans la liqueur du sulfure ammonique, on filtre le sulfure de plomb et l'on traite la liqueur filtrée directement par du chlorure de baryum dans un tube fermé à 200°. Le carbonate de baryum formé indiquera que le liquide contenait primitivement de l'urée.

Recherche de la bile. — On emploie les réactifs de *Pettenkofer* et de *Gmelin* (voir plus loin) qui permettent de déceler la présence des acides et des matières colorantes biliaires.

§ IV. — ANALYSE DU SUC PANCRÉATIQUE.

1. GÉNÉRALITÉS.

Le suc pancréatique est un liquide incolore, plus ou moins filant, inodore, à réaction alcaline, d'une saveur saline et fade. Selon qu'il provient de fistules temporaires ou permanentes, il se transforme ou non en gelée par le refroidissement.

Chauffé à une température voisine de l'ébullition, il se sépare en un précipité blanc plus ou moins abondant et un liquide à réaction alcaline qui contient de l'albuminate de potasse.

Sa solution est précipitée par les acides sulfurique, nitrique, chlorhydrique, phosphorique et acétique. Le précipité obtenu par l'acide nitrique est jaune pâle et passe à l'orange.

Le chlore, le brome, l'iode, l'acide iodhydrique, le tannin et l'alcool ainsi que beaucoup de sels minéraux y produisent également des précipités.

Les alcalis caustiques ainsi que les carbonates alcalins s'opposent à la coagulation du liquide par la chaleur et redissolvent les précipités formés primitivement.

Exposé à l'air, le suc pancréatique se décompose au bout de peu de temps et contient alors de nombreuses bactéries. A l'état frais même, le microscope y révèle ces éléments organisés.

Pour remédier aux inconvénients occasionnés par leur présence et empêcher par conséquent les fermentations dans un suc destiné à l'expérimentation, on y ajoute des antiseptiques soit du thymol, soit de l'acide salicylique ou du sublimé en poudre impalpable.

Principes constitutifs. — Ses principes constitutifs sont : l'*eau*, une *matière*

albuminoïde dont les réactions diffèrent de celles de l'albumine du sérum, de l'*albuminate de potasse*, trois ferments jouissant de propriétés différentes, dont l'un n'agit que sur l'amidon pour le transformer en sucre; l'autre sur l'albumine et la fibrine pour donner naissance à des peptones; le troisième enfin capable de dédoubler les corps gras. Il renferme en outre de l'*inosite* (Külz) (1), de la *leucine*, de la *tyrosine* (Kühne) (2), une *matière grasse butyreuse*, un *savon gras*, des *matières extractives*, solubles dans l'alcool et des *sels inorganiques* (*chlorures*, *phosphates* et *sulfates alcalins*), *phosphates de calcium* et de *magnésium*, *carbonate de calcium* et traces de *phosphate de sexquioxyde de fer*. On a signalé en outre la présence de *carbonate de sodium* (Cl. Bernard) et celle de *chlorure de potassium* (Kraeger).

2. ANALYSE QUALITATIVE.

Comme la fonction physiologique du pancréas consiste principalement dans la transformation des matières albuminoïdes, des matières grasses et amylacées, l'analyse chimique de cet organe doit s'occuper surtout des procédés employés pour isoler les divers principes qui président à ces transformations ou dédoublements, et faire connaître leurs propriétés ainsi que leur valeur digestive.

Danilewsky, Kühne, Defresne, Lossnitzer, Wittich, Béchamp (3), Colin (4), Duclaux (5) et beaucoup d'autres ont contribué à l'étude de ces composés. Sans vouloir entrer ici dans tous les détails relatifs au mode de préparations de ces ferments, nous n'indiquerons que les moyens employés pour effectuer leur dosage.

3. ANALYSE QUANTITATIVE.

A. Dosage de la diastase pancréatique.

Procédé W. Roberts (6). — L'auteur évalue l'activité du ferment en saccharifiant une certaine quantité d'empois d'un titre connu dans un temps donné et à une température déterminée.

Le titre de l'empois est de 1 p. 100. Pour préparer le réactif dans de bonnes conditions, on fait une bouillie de 5 grammes d'amidon avec 30^{cc} d'eau que l'on verse dans 470^{cc} d'eau à la température du bain-marie à l'ébullition. On chauffe encore pendant quelques instants et on laisse refroidir.

Le réactif indicateur est de l'eau iodée faible.

Mode opératoire. — On prend 10^{cc} de l'empois à 1 p. 100 auxquels on ajoute un volume déterminé du liquide diastasique, on complète par de l'eau pour

(1) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1876, p. 46.
(2) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1878, p. 365.
(3) *Comptes rendus*, t. XCIV, p. 883.
(4) *Comptes rendus*, t. XCIX, p. 142.
(5) *Comptes rendus*, t. XCIV, p. 976.
(6) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1881, p. 290.

obtenir 100^{cc} et l'on maintient à 40°. On prélève de temps en temps une goutte du mélange dans l'intervalle de quatre à six minutes, et lorsque la solution iodée n'indique plus de coloration bleue, l'opération est terminée. Ces essais préliminaires permettent d'arriver à la saccharification complète au bout d'un certain temps.

Si p^{cc} d'une solution diastasique transforment en glucose 10^{cc} de l'empois à 1 p. 100 au bout de m minutes, on obtient pour l'activité du ferment, exprimée par la quantité d'empois transformée en glucose par 1^{cc} de la solution diastasique au bout de cinq minutes, le nombre

$$D = \frac{10}{p} \times \frac{5}{m}.$$

L'application de cette formule repose sur la vérification expérimentale des deux relations suivantes :

1° Proportionnalité directe entre des quantités variables d'empois transformées et les solutions diastasiques employées à opérer ces dédoublements dans un temps déterminé;

2° Proportionnalité inverse entre les solutions diastasiques nécessaires à la transformation d'une même quantité d'empois et la durée pendant laquelle s'effectuent ces transformations.

Dans les conditions expérimentales indiquées par l'auteur, c'est-à-dire en faisant usage d'empois d'amidon suffisamment étendu, la première relation subsiste toujours. Mais elle n'existerait plus pour un empois trop concentré, parce que les produits de dédoublement ne se formeraient plus aussi facilement.

Procédé Grützner (1). — Il repose, comme le précédent, sur la transformation d'une quantité déterminée d'empois par la solution diastasique et n'en diffère que par le mode opératoire. On dépose sur une série de filtres une quantité déterminée d'empois et l'on verse sur chacun d'eux le liquide destiné à saccharifier l'amidon. Il est évident que la solution la plus active est celle qui aura opéré le plus rapidement la transformation.

Le dosage s'effectue donc par la détermination de la quantité de sucre contenue dans les différents liquides de filtration.

B. Dosage de la pepsine pancréatique (trypsine).

Procédé W. Roberts (2). — La valeur du ferment peptonique peut s'évaluer, d'après les indications de l'auteur, par la mesure du temps nécessaire à la formation de *métacaséine* dans une quantité déterminée de lait.

Si p représente un volume connu de la solution pepsique, si l'on représente par m le temps exprimé en minutes pendant lequel s'effectue la transformation de 50^{cc} de lait frais, on a la formule

$$T = \frac{50^{cc}}{p} \times \frac{5}{m},$$

(1) *Archiv de Pflüger*, t. XII, p. 290.
(2) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1881, p. 294.

dans laquelle T exprime l'activité pepsique de la solution pancréatique à examiner pendant cinq minutes.

L'auteur désigne, sous le nom de *métacaséine*, le premier produit insoluble, coagulable à la chaleur, qui se forme par la réaction de la trypsine sur le lait frais. Ce coagulum disparaît de nouveau quand le lait est entièrement peptonisé sous l'influence d'une quantité de pepsine dix fois plus considérable que celle qui a occasionné le premier précipité. Ce fait étant rigoureusement établi, on peut se baser sur la coagulation obtenue au début de la réaction pour mesurer la valeur trypsique du ferment.

Bien qu'il semble résulter des recherches de Landwehr sur la gomme animale que l'action du suc pancréatique sur les corps gras se réduise à une simple émulsion, nous croyons devoir mentionner, à cause de l'intérêt historique qu'elle présente, la méthode imaginée par Grützner pour apprécier l'action saponifiante (?) du suc pancréatique.

C. Dosage du ferment saponifiant.

Procédé Grützner (1). — Le principe de la méthode consiste à ajouter à l'extrait glycériné du pancréas une quantité déterminée d'huile d'amandes douces et à apprécier le moment où le mélange, primitivement neutre, prend une réaction acide.

Mode opératoire. — On épuise la glande par une solution de 9 parties de glycérine pure additionnée de 1^{cc} de carbonate de soude à 1 p. 100.

Cette opération exige, pour être complète et rapide, l'emploi du mortier et de verre pulvérisé. Les dosages s'effectuent avec 30^{cc} de liquide provenant de 3 grammes de glande.

On place dans une série de tubes à essai, chauffés au bain-marie, des volumes égaux d'une solution bleue de tournesol étendu; on y ajoute par gouttes un volume déterminé de la solution à examiner, en même temps qu'une émulsion d'huile d'amandes douces (formée d'huile = 10, gomme arabique = 5, eau distillée = 35) et l'on observe attentivement le moment où le liquide, de bleu qu'il était primitivement, passe au rouge pelure d'oignon.

L'intervalle de temps compris entre le moment initial de l'expérience et celui où apparaît le changement de couleur du tournesol, peut être considéré comme mesure de la valeur du ferment. L'apparition de la couleur rouge indique en effet la mise en liberté de l'acide gras de l'huile sous l'influence du liquide pancréatique. Le dosage de ce principe s'effectue donc par un procédé colorimétrique.

§ V. — ANALYSE DE LA BILE.

1. GÉNÉRALITÉS.

La bile est un liquide plus ou moins visqueux, jaune verdâtre, à odeur aromatique et à saveur amère. Sa densité varie entre 1,0105 et 1,032.

(1) *Pflügers Archiv.*, t. XII, p. 303.

A. *Principes constitutifs normaux.* — Elle renferme comme principes constitutifs : de l'*eau*, du *taurocholate* et du *glycocholate de sodium*, des *corps gras* (*glycérides* des acides *palmitique*, *stéarique* et *oléique*), des *palmitates* et *stéarates alcalins*, de la *lécithine*, du *mucus*, des *matières colorantes* (*bilirubine*, *biliverdine*), des *sels inorganiques*, *chlorure de sodium*, *chlorure de potassium*, *phosphates de sodium*, de *calcium*, de *magnésium*, *traces de fer*, de *manganèse* et de *silice*.

B. *Principes constitutifs anormaux ou pathologiques.* — Parmi les principes qui n'existent pas dans la bile d'une manière constante se trouvent : de la *glucose* (*Frerichs* et *Stokvis*), des traces de composés *albuminoïdes* et de *leucine*, de l'*acide choloïque*, de l'*acide cholalique*, de la *dyslysine*, de la *taurine* et de l'*ammoniaque*.

Quand la bile subit un commencement de putréfaction, ou bien quand le phénomène est arrivé à sa limite ultime, le liquide contient de la *triméthylamine*, des *acides gras volatils* (*acétique* et *valérianique*), du *sulfate de sodium*, du *sulfate d'ammonium*, du *phosphate ammoniaco-magnésien* et du *phosphate de calcium*.

Quand la bile s'altère dans la vésicule, elle possède généralement une réaction acide, devient souvent très visqueuse et peut devenir incolore surtout à la suite de dégénérescence graisseuse du foie.

2. PROPRIÉTÉS CHIMIQUES DE LA BILE.

La bile est soluble en toutes proportions dans l'eau.

Elle est précipitable par l'alcool. Ce précipité renferme principalement des sels inorganiques, chlorures, sulfates et phosphates, ainsi que de la mucine.

Évaporée au bain-marie à siccité, elle abandonne un résidu poisseux cassant et très hygroscopique qui se ramollit facilement à la chaleur.

Les alcalis en changent la couleur sans produire de précipité, tandis que les acides y font naître des précipités abondants, constitués par un mélange de mucus et d'acide glycocholique.

L'acide sulfurique concentré redissout le précipité primitivement formé et produit une solution brune au début qui devient plus tard fluorescente avec une teinte verte.

Le chlorure de baryum ne précipite la bile que dans le cas où elle possède une réaction alcaline très prononcée ou quand elle contient de l'acide cholalique.

L'acétate neutre de plomb fait naître un précipité renfermant principalement du glycocholate de plomb. En filtrant la liqueur et traitant par l'acétate triplombique, on précipite le taurocholate de plomb.

Lorsqu'on évapore la bile au bain-marie à siccité et que l'on traite le résidu par l'alcool, l'extrait alcoolique concentré précipite abondamment par l'éther; il se forme un précipité poisseux qui finit par se transformer au bout d'un temps variable en un amas d'aiguilles cristallines. La couche alcoolique laisse apparaître, après plusieurs jours ou plusieurs mois, des cristaux d'acides glyco-

cholique et taurocholique, tandis que la couche éthérée dissout la lécithine, la cholestérine et les corps gras.

Plus la cristallisation de l'acide glycocholique est rapide, plus la quantité de produits est considérable. En remplaçant en outre l'éther par la benzine, la séparation s'effectue plus rapidement.

Quand la cristallisation ne s'effectue pas, on a la certitude de la présence d'une quantité considérable d'acide taurocholique qui, dans ce cas, semble agir sur l'acide glycocholique et faire obstacle à la cristallisation (Emich).

3. RÉACTIONS DES ACIDES BILIAIRES ET DES MATIÈRES COLORANTES BILIAIRES.

1. *Réaction de Pettenkofer.* — Quand on ajoute à l'extrait alcoolique de la bile une goutte de solution de sucre au quart et de l'acide sulfurique concentré, on observe tout d'abord un trouble en raison de la mise en liberté des acides biliaires. L'addition d'une quantité plus forte d'acide fait disparaître le louche primitif et provoque dans la solution des phénomènes de coloration très accentués. La teinte d'abord rouge-cerise, passe au carmin, au pourpre et finalement au violet. En chauffant modérément le mélange, la succession de couleurs se présente avec beaucoup de netteté, mais elle perd de son éclat quand on dépasse 50°.

Avec l'acide sulfurique sans addition de sucre, on obtient encore une coloration rouge, mais non violette (Van der Brœk, Lehmann).

La présence des agents oxydants, tels que nitrate et chlorate de potasse, empêchent la réaction (Huppert).

Neukomm a rendu la réaction de Pettenkofer plus sensible en opérant de la manière suivante : Verser une goutte d'acide sulfurique sur une goutte d'une solution alcoolique des acides biliaires au quart, ajouter ensuite au mélange une trace de solution sucrée et chauffer doucement. Ce procédé permet d'évaluer $0^{mgr},06$ d'acides biliaires.

2. *Réaction de Tiedmann et Gmelin.* — Quand on traite une solution aqueuse de bile par de l'acide azotique, on obtient une suite de colorations qui passent par le vert, le bleu, le violet, le rouge et le jaune. Cette réaction est assez sensible pour déceler des quantités extrêmement faibles de liquide biliaire.

Quand on a soin de ne pas agiter le flacon dans lequel s'effectue la réaction, les couches diversement colorées se superposent dans l'ordre que nous venons d'indiquer.

Quoique très sensible, cette réaction pourrait néanmoins induire en erreur si l'on opérait en solution alcoolique, puisque l'acide azotique en réagissant sur l'alcool produit également des phénomènes de coloration, voir p. 105.

4. RÉACTIONS CARACTÉRISTIQUES DES PRINCIPES CONSTITUTIFS ISOLÉS.

A. Acide glycocholique. (Acide biliaire, acide cholique de Gmelin et Strecker.)

Acide sulfurique et sucre (*Réactif de Pettenkofer*). — En opérant comme avec la solution de l'extrait alcoolique de la bile, on obtient le phénomène de coloration décrit plus haut.

Acide sulfurique concentré. — Il dissout l'acide glycocholique sans coloration. En ajoutant de l'eau, l'acide glycocholique se reprécipite.

Quand on laisse l'acide sulfurique au contact de l'acide glycocholique pendant un certain temps, la masse finit par affecter des teintes qui varient du rouge au bleu et au vert.

La solution acide étant chauffée dépose, au bout d'un certain temps, des gouttelettes huileuses d'*acide cholonique* qui se résinifient peu à peu.

L'acide glycocholique bouilli avec l'acide sulfurique étendu se dédouble en *glycocolle* et *acide choloïdinique.*

L'acide chlorhydrique agit de même.

Les *bases alcalines* ou *alcalino-terreuses* donnent naissance, dans les mêmes circonstances, à du *glycocolle* et de l'*acide cholique.*

Latschinoff (1) a montré récemment qu'indépendamment de l'acide cholalique ordinaire $C^{24}H^{40}O^5$, il en existait un autre, l'*acide choléinique* $C^{25}H^{42}O^4 + 1\,1/2\,H^2O$. Ce dernier se produirait dans les mêmes circonstances que le premier et constituerait par conséquent un produit de dédoublement des acides biliaires. Il est caractérisé par son sel de baryum dont la solubilité est beaucoup plus grande que celle du cholalate ordinaire.

L'*acétate de plomb* précipite les glycocholates alcalins sous forme de flocons blancs; mais ce précipité est soluble dans l'acide acétique. La solution de l'acide glycocholique libre n'est pas précipitée.

Azotate d'argent : précipité blanc floconneux, soluble dans l'eau bouillante d'où il se dépose à froid sous forme de fines aiguilles.

Sulfate de cuivre : précipité blanc bleuâtre soluble dans les acides.

Chlorure de baryum : pas de précipité.

B. Acide taurocholique. (Acide choléique de Liebig.)

Acide sulfurique et *sucre* (*réactif de Pettenkofer*): Mêmes colorations que pour l'acide glycocholique.

Acides minéraux. Quand on ajoute indifféremment l'un ou l'autre des acides chlorhydrique ou sulfurique à la solution d'un taurocholate, on n'obtient pas de précipités puisque l'acide taurocholique est très soluble.

Une ébullition prolongée avec les acides provoque son dédoublement en *taurine* et *acide choloïdinique.*

Bases alcalines et *alcalino-terreuses :* elles dédoublent l'acide taurocholique en *taurine* et *acide cholalique.*

Acétate de plomb : pas de précipité (caractère différentiel des glycocholates).

Acétate triplombique : précipité blanc floconeux, soluble dans un excès de réactif et dans l'eau bouillante.

Azotate d'argent : pas de précipité (caractère différentiel des glycocholates).

Chlorure mercurique : pas de précipité.

Nitrate mercureux : précipité blanc.

Chlorure de zinc : précipité blanc.

Chlorure de baryum : pas de précipité.

(1) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1885, p. 317.

C. Acide cholalique. (Acide cholique.)

Acide sulfurique et *sucre* (*réactif de Pettenkofer*): Succession de teintes rouge-cerise, carmin, pourpre, violet, comme pour les deux précédents acides. Les deux acides biliaires ainsi que celui qui résulte de leur dédoublement se comportent donc d'une manière identique en présence du réactif de Pettenkofer.

Acide chlorhydrique. Chauffé pendant longtemps avec de l'acide chlorhydrique à l'ébullition, l'acide cholalique finit par se transformer en *dyslisine*, poudre blanche soluble dans l'eau.

Acide azotique. En traitant l'acide cholalique par l'acide azotique, il se produit de l'acide acétique, des acides valérianique, caprylique, caprique, nitrocholalique et du chloracrol que l'on peut recueillir par distillation.

Chlorure de calcium : précipité amorphe (caractère différentiel des glycocholates et taurocholates.

Azotate d'argent: précipité floconneux soluble dans l'eau bouillante; se dépose de nouveau à froid sous forme de fines aiguilles.

Chlorure de baryum : pas de précipité.

D. Bilirubine. (Biliphéine, cholépyrrhine, cholophéine.)

Se présente sous forme de poudre jaune orange ou de cristaux microscopiques rouge foncé avec reflets irisés bleuâtres.

Insoluble dans l'eau, très peu soluble dans l'alcool et l'éther; soluble au contraire dans le chloroforme, le sulfure de carbone et la benzine.

Acide azotique. Quand on ajoute à une solution alcaline de bilirubine de l'acide azotique chargé de vapeurs nitreuses, on observe une série de colorations se succédant toujours dans l'ordre suivant : vert, bleu, violet, rouge rubis, jaune.

La solution chloroformique jaune orange de bilirubine traitée par une ou deux gouttes d'acide azotique devient rouge rubis. En y ajoutant de l'alcool, la teinte devient bleue foncée, quelquefois verte ou rouge (Gmelin, Heintz, Brücke, Staedeler, Maly).

Le produit ultime de la réaction est la *cholétéline* $C^{16}H^{18}NO^{6}$.

La limite de la réaction s'étend jusqu'à 1/80.000.

Quand on traite une solution ammoniacale de bilirubine, moyennement concentrée par de l'acide azotique chargée de vapeurs nitreuses, on obtient un précipité bleu verdâtre (Staedeler).

La coloration verte est le résultat d'une oxydation que l'on peut exprimer par l'équation suivante :

$$\underbrace{C^{16}H^{18}NO^{3}}_{\text{Bilirubine.}} + H^{2}O + O = \underbrace{C^{16}H^{20}NO^{5}}_{\text{Biliverdine.}}$$

Les *carbonates alcalins* produisent également la coloration verte dans les solutions de bilirubine.

Une *solution alcoolique de brome* fait naître dans une solution chloroformique

de bilirubine les mêmes colorations que l'acide azotique azoteux. Lorsqu'on cesse d'ajouter le réactif au moment où apparaît la teinte bleue, il ne se produit plus d'autres couleurs. En évaporant le liquide, on obtient un résidu que l'alcool redissout avec une teinte d'un bleu superbe. Si alors on ajoute de l'acide azotique et que l'on chauffe modérément, la couleur bleue disparaît et fait place lentement à du violet, du pourpre, puis à du brun clair (Maly).

La solution alcoolique bleue précipite en vert foncé en présence de l'acétate triplombique.

La potasse fait virer le précipité au vert sale et l'acide chlorhydrique au bleu.

Le chlorure de calcium ammoniacal produit dans la même solution bleue un précipité couleur indigo.

L'*iode en solution alcoolique* ajouté à une solution de bilirubine produit une teinte vert émeraude qui, au bout d'une demi-heure, est remplacée par du rouge et du jaune (Maréchal).

L'*acide sulfurique concentré* dissout la bilirubine avec une coloration brunâtre qui passe peu à peu au violet et au vert (Staedeler).

En ajoutant de l'eau au mélange, il se produit des flocons verts, solubles dans l'alcool. Le liquide alcoolique prend alors une teinte violette.

L'*acide chlorhydrique concentré* colore la bilirubine en bleu pâle.

Le *chlorure de calcium*, ajouté à une solution ammoniacale de bilirubine, donne un précipité rouille qui, après dessiccation, prend un reflet verdâtre brillant.

Le *chlorure de baryum* se comporte de même; le précipité est brun rouge foncé.

Le *nitrate d'argent* précipite la solution ammoniacale de bilirubine sous forme de flocons brun violet (Staedeler).

Sulfo-diazobenzol. Quand on ajoute le réactif suivant : (1 gramme d'acide sulfurique, 15 centigrammes d'acide chlorhydrique et 0gr,1 de nitrite de sodium, dissous dans 1 litre d'eau), dans une solution chloroformique de bilirubine et de l'alcool en quantité suffisante pour faire disparaître le trouble qui se forme au début, on obtient une coloration rouge qui passe au violet, puis au bleu vif sous l'influence de nouvelles quantités d'acides ajoutées goutte à goutte. Cette propriété constitue un caractère différentiel pour la bilirubine et les autres matières colorantes de la bile (P. Ehrlich) (1).

E. Biliverdine. (Bilifulvine.)

La biliverdine est une substance amorphe vert foncé, insoluble dans l'eau, l'éther et le chloroforme, soluble dans l'alcool avec une teinte d'un beau vert (Staedeler, Tudichum). L'*acide azotique concentré* colore la solution alcoolique de biliverdine en *bleu, violet, rouge* et finalement en jaune sâle (Staedeler).

Les *alcalis caustiques* dissolvent la biliverdine : leur solution est verte et fournit par addition d'acide chlorhydrique un précipité vert.

(1) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1884, p. 336.

F. Biliprasine.

Elle se présente sous forme d'une masse cassante, dont la poudre est noir verdâtre. Elle est insoluble dans l'eau, l'éther et le chloroforme, et facilement soluble dans l'alcool. Ses solutions sont d'un beau vert (Staedeler).

Acide azotique. — On obtient les mêmes colorations qu'avec les autres matières colorantes, à l'exception toutefois du bleu qui n'apparaît que difficilement.

Les *alcalis caustiques* dissolvent la biliprasine avec une coloration brune.

L'*ammoniaque* se comporte de même.

L'addition d'un acide à ces solutions alcalines précipite de nouveau la biliprasine sous forme de flocons verts.

5. RECHERCHE DE L'ALBUMINE, DE L'HÉMOGLOBINE, DE LA GLUCOSE, DE L'URÉE, DE LA LEUCINE, DES ACIDES VOLATILS ET DE LA TAURINE.

A. **Albumine.**

a. On ajoute à la bile une quantité suffisante d'eau, on sature le liquide par de l'acide acétique étendu et l'on fait bouillir. S'il se forme un précipité, il est dû à la présence de l'albumine.

b. On précipite le liquide biliaire par de l'alcool. Il se produit un dépôt floconneux contenant du mucus et de l'albumine qui entraînent plus ou moins de matières colorantes. On lave d'abord à l'alcool pour dissoudre les pigments et puis on emploie de l'acide acétique concentré pour dissoudre l'albumine. On filtre et l'on évapore le liquide qui passe; on ajoute du sulfate de soude en solution concentrée en vue de précipiter totalement l'albumine (Hoppe-Seyler).

B. **Hémoglobine.**

Comme la bile jouit de la propriété de dissoudre facilement les globules sanguins à la température de 37° environ, et de transformer l'hémoglobine en hématine et en matières albuminoïdes principalement insolubles, il est aisé de voir qu'on ne doit pas y trouver la matière colorante du sang intacte. Néanmoins on y rencontre de l'hémoglobine modifiée; car, en dissolvant à l'aide de réactifs appropriés, d'une solution de soude par exemple, les dépôts plus ou moins grumeleux contenus dans la vésicule et en soumettant le liquide à l'appareil spectral, on peut reconnaître les produits de dédoublement de l'hémoglobine.

En traitant ultérieurement la solution par l'acide acétique, puis par les acides et les alcalis, et en faisant bouillir avec de l'acide azotique, on parvient sans difficulté à caractériser l'albumine en même temps que l'hématine.

C. **Glucose.**

On évapore la bile jusqu'à consistance sirupeuse et on y ajoute de l'alcool en excès, on jette le précipité sur filtre, on décolore la liqueur à l'aide du noir animal,

on filtre une seconde fois, on distille et l'on examine si l'extrait agit ou non sur la solution cupro-potassique.

D. **Urée.**

Pour y déceler la présence de l'urée, on évapore la bile à siccité au bain-marie. On reprend le résidu par l'alcool et l'on précipite le liquide alcoolique par de l'éther. On abandonne au repos pendant 24 heures, on décante le liquide éthéré et on l'évapore au bain-marie à siccité. On redissout le résidu dans une petite quantité d'eau, on filtre et l'on dose l'urée par l'une ou l'autre des méthodes connues.

E. **Leucine et tyrosine.**

La bile évaporée au bain-marie en consistance sirupeuse est additionnée d'alcool en excès. La liqueur limpide filtrée est distillée pour enlever la majeure partie de l'alcool et précipitée ensuite par un mélange d'acétate triplombique et d'ammoniaque. On filtre, on enlève l'excès de plomb du liquide par un courant d'hydrogène sulfuré et l'on évapore jusqu'à cristallisation.

On examine alors les cristaux au point de vue microscopique et chimique.

F. **Acides gras volatils.**

Évaporation de la bile en consistance sirupeuse. Reprise du résidu par de l'alcool en excès. Filtration du liquide alcoolique et distillation de l'alcool. Addition d'hydrate de baryte en excès à la solution aqueuse de cette opération. Ébullition prolongée pendant 12 heures. Sursaturation du liquide par de l'acide sulfurique dilué pour précipiter l'acide cholalique et le sulfate de baryte. Filtration du dépôt et enfin distillation du liquide filtré qui doit renfermer les acides gras.

G. **Taurine.**

La taurine constitue un produit de dédoublement de l'acide taurocholique; elle n'existe pas à l'état libre dans la bile fraîche. Si donc l'analyse révèle la présence de ce composé, cela prouve, de deux choses l'une, ou bien que la bile examinée n'est pas fraîche ou bien qu'elle renferme un taurocholate en voie de transformation.

Sa recherche s'effectue de la manière suivante : on évapore la bile au bain-marie, on traite l'extrait par l'alcool, on filtre, on évapore le liquide alcoolique et l'on ajoute de l'acide acétique. On obtient de la sorte un précipité d'acide choloïdique et d'acide cholalique qu'on jette sur filtre; on évapore à siccité la liqueur filtrée et l'on traite par l'alcool le produit de l'évaporation. Si le résidu insoluble et examiné au microscope se présente sous forme de prismes à quatre ou à six pans, s'il est soluble dans 15 parties d'eau froide, s'il ne précipite pas par l'azotate de baryum, et qu'après calcination avec le nitre et la potasse caustique il donne naissance à un précipité, le composé soumis à l'analyse ne peut être que de la taurine.

6. ANALYSE QUANTITATIVE.

S'il s'agit de déterminer les principes constitutifs contenus dans la bile normale ou pathologique, on peut suivre indistinctement la méthode de Frerichs ou celle de Hoppe-Seyler.

A. Méthode de Frerichs.

1. *Dosage de l'eau et des matières solides.* — On évapore au bain-marie un poids connu de bile, 15 à 20 grammes environ, on dessèche le résidu à l'étuve entre 110 et 120°. Lorsqu'on ne constate plus de différence de poids entre deux pesées successives, on considère l'opération comme terminée. On obtient ainsi le poids de l'eau et celui de la totalité des matières solides.

2. *Dosage des corps gras et de la cholestérine.* — Le résidu sec provenant de la première expérience est pulvérisé, puis traité séparément pour obtenir le poids des corps gras, de la cholestérine et du mucus.

Une partie de la poudre est épuisée par l'éther dans un petit appareil à reflux ou dans un ballon. Lorsque le véhicule ne dissout plus rien, on évapore la solution éthérée qui abandonne un mélange de corps gras et de cholestérine. Cet extrait peut renfermer, en outre, des produits de dédoublement des composés biliaires, solubles dans l'éther. Pour s'en assurer, on reprend le résidu par l'alcool faible, on jette sur filtre et l'on évapore le liquide. On détermine le poids du nouveau résidu et on le retranche du nombre obtenu dans la première opération.

3. *Dosage du mucus.* — Le résidu débarrassé des matières grasses et de la cholestérine (opération 2) est repris par l'alcool bouillant à 90° dans un appareil à déplacement continu, aussi longtemps qu'il se dissout quelque chose. Lorsque l'épuisement est complet on laisse refroidir le liquide, on jette le résidu sur un filtre taré et l'on pèse le résidu qui ne renferme que de la *mucine* et un peu de *matières colorantes biliaires.*

4. *Dosage des acides biliaires.* — Le liquide alcoolique de l'opération précédente est évaporé dans une capsule de porcelaine tarée. Le résidu est chauffé à l'étuve à 120°, puis pesé : son poids correspond à celui des taurocholate et glycocholate de soude, souillés par un peu de matière colorante.

5. *Dosage des sels fixes.* — Une partie du résidu de la première opération chauffé et incinéré fournit le résidu des sels fixes dont l'analyse doit être effectué d'après les méthodes habituelles.

B. Méthode de Hoppe-Seyler.

1. *Dosage de l'eau.* — On prend 20 à 30 grammes de bile qu'on évapore au bain-marie puis à l'étuve à 110°. Lorsque la capsule n'accuse plus de différence de poids dans les pesées successives, on obtient le poids de l'*eau.*

2. *Dosage de la mucine, des matières colorantes et des sels fixes.* — Le résidu de l'opération précédente est traité par l'alcool absolu à la température de l'ébullition. On obtient de la sorte une partie insoluble A et une solution B. La

première comprend la *mucine*, les *sels fixes* et les *matières colorantes*. On la jette sur filtre, on dessèche à l'étuve à 110° et l'on pèse. En incinérant le tout il reste des cendres dont le poids correspond à celui des sels fixes. Il faut dans cette opération tenir compte des cendres du filtre.

3. *Dosage des taurocholate et glycocholate de soude.* — La solution B de l'opération précédente renferme les tauro- et glycocholate de soude ainsi que la cholestérine, les corps gras et la lécithine.

On l'évapore à consistance sirupeuse, puis on ajoute de l'éther en excès qui dissout les trois derniers composés et précipite les deux premiers. Ce procédé conduit donc à la détermination de la somme des poids des *sels de soude à acide taurocholique* et *glycocholique*.

Pour les séparer, on se base sur la propriété dont ils jouissent en présence des alcalis de se dédoubler et de fournir de l'acide cholique, de la taurine et du glycocolle d'après les équations suivantes :

$$\underbrace{C^{26}H^{43}NO^6}_{\text{A. Glycocholique}} + H^2O = \underbrace{C^{24}H^{40}O^5}_{\text{A. Cholique}} + \underbrace{C^2H^5NO^2}_{\text{Glycocolle}}$$

$$\underbrace{C^{26}H^{45}NO^7S}_{\text{A. Taurocholique}} + H^2O = \underbrace{C^{24}H^{40}O^5}_{\text{A. Cholique}} + \underbrace{C^2H^7NO^3S}_{\text{Taurine.}}$$

Étant donnée la solution alcoolique des taurocholate et glycocholate de soude, on l'examine au polarimètre et l'on observe la rotation produite par le mélange des deux.

On évapore à siccité, on reprend le résidu par de l'eau, puis on ajoute de la potasse caustique et l'on chauffe dans un tube fermé au bain d'huile pendant 12 heures environ à 110-120°. Quant l'opération est terminée, on traite la solution alcaline par l'acide chlorhydrique pour précipiter l'acide cholique. On lave ce dernier à l'eau puis à l'éther et on le fait cristalliser dans l'alcool. On détermine ainsi le poids de l'*acide cholique*, soit P′ ce poids.

On évapore la solution acide dans laquelle on avait précépité ce dernier, on ajoute au résidu une petite quantité de nitre et de potasse caustique et l'on chauffe le mélange jusqu'à fusion : le soufre de la taurine provenant du dédoublement précédent fournit du sulfate de potasse que l'on précipite par du chlorure de baryum. On pèse le sulfate de baryte avec les précautions d'usage, et du poids de ce dernier on déduit celui de l'acide taurocholique d'après la relation

$$(1) \qquad \frac{100 \text{ p. de sulfate de baryte}}{229{,}86 \text{ p. d'acide taurocholique}} = \frac{P}{x}$$

et de l'acide cholique provenant de son dédoublement

$$(2) \qquad \frac{100 \text{ p. de sulfate de baryte}}{229{,}89 \text{ p. d'acide cholique}} = \frac{P_1}{x_1}.$$

Or comme l'expérience citée plus haut a permis de peser le poids P′ d'acide cholique provenant des acides taurocholique et glycocholique, il s'ensuit que $P'-x_1$ représentera le poids de l'acide cholique qui se rapporte uniquement à l'acide glycocholique. Soit π le poids de cette quantité d'acide cholique.

D'un autre côté, comme 388 parties d'acide cholique correspondent à 465 parties d'acide glycocholique, il s'ensuit que 100 parties du premier équivalent à 119,74 du second; d'après cela on aura

$$(3) \qquad \frac{100 \text{ p. d'acide cholique}}{119{,}74 \text{ p. d'acide glycocholique}} = \frac{\pi}{x'}.$$

Les équations (1) et (3) donnent donc les quantités des acides tauro- et glycocholique qui se trouvent dans le mélange.

Dans la dernière édition de son traité d'analyse, Hoppe-Seyler remplace la potasse, qu'il employait primitivement pour opérer le dédoublement des acides biliaires, par de la baryte caustique et chauffe également pendant le même temps en tubes fermés dans un bain d'huile. Il déverse le produit de la réaction dans de l'eau et fait passer dans la solution un courant d'acide carbonique afin d'éliminer l'excès de baryte. Le précipité A contient alors, outre le carbonate de la base, les stéarates et autres sels barytiques à acides gras. On jette sur filtre et on recueille avec soin le liquide B qui renferme le cholalate de baryte, le chlorure de baryum, la taurine et le glycocolle.

Après dosage du précipité A on le met en suspension dans l'eau, on sursature par de l'acide chlorhydrique et l'on agite le liquide avec de l'éther; cette opération a pour but de dissoudre les acides stéarique et oléique, et d'en faire le dosage total.

Quant au liquide B, on l'évapore en consistance sirupeuse, on l'agite avec de l'éther et de l'acide chlorhydrique, on décante la couche supérieure et on l'abandonne à l'évaporation spontanée pendant plusieurs jours. On jette sur filtre l'acide cholalique devenu insoluble dans l'eau, on dessèche à 120° et l'on pèse.

La liqueur filtrée acide, traitée par un mélange d'ammoniaque caustique et de carbonate d'ammoniaque peut être employée ultérieurement pour le dosage du soufre.

Vérification des résultats. — Hoppe-Seyler indique une méthode purement physique pour le contrôle des dosages obtenus par la balance.

En désignant: 1° par m le poids d'acide taurocholique correspondant au poids P de sulfate de baryte donné par l'équation (1);

2° Par a la déviation en degrés, dans la lumière monochromatique, pour la solution des tauro- et glycocholate de soude dans un tube de $0^m,1$ et en admettant que des déviations spécifiques, en solution alcoolique, soient :

$(\alpha)j = +25°,3$ pour l'acide taurocholique;
$(\alpha)j = +27°,6$ — glycocholique.

On obtient le poids n de l'acide glycocholique contenu dans la solution, au moyen de la relation suivante :

$$n = \frac{100 \times a - 25{,}3\, m}{27{,}6}.$$

Les résultats fournis par ce procédé optique ne sont acceptables que dans le cas où la cholestérine est éliminée préalablement au moyen de l'éther; à défaut de cette précaution, ils sont nécessairement altérés par la déviation à gauche que cette substance imprime au plan de polarisation.

3. *Dosage de la cholestérine, des corps gras et de la lécithine.* — On évapore la solution éthérée précédente à une douce chaleur, on dessèche dans une capsule tarée sous la cloche à acide sulfurique et l'on pèse. L'extrait contient le mélange de *cholestérine*, des *corps gras* et de *lécithine*.

On traite le résidu par une solution alcoolique de potasse caustique et l'on maintient le mélange au bain-marie bouillant pendant plusieurs heures. La lécithine et les corps gras sont saponifiés, tandis que la cholestérine ne se combine pas avec la potasse. On élimine la totalité de l'alcool, on ajoute de l'eau et l'on traite par de l'éther dans un entonnoir à robinet, en ayant soin de ne pas agiter trop violemment. On distille l'éther et l'on évapore la solution dans une capsule tarée à 100°. Le poids du résidu se rapporte à la *cholestérine;* en le retranchant de celui de l'expérience précédente, on obtient la somme des poids de la lécithine et des corps gras.

Pour rendre l'analyse quantitative de la bile plus complète par le dosage des bases organiques telles que la névrine et autres composés azotés, solubles dans l'alcool et insolubles dans l'éther, on serait obligé de recourir à deux opérations nouvelles. On dissoudrait dans l'eau l'extrait éthéré dont il a été question antérieurement, on le diviserait en deux parties, dont la première serait traitée par le bichlorure de platine, en vue d'obtenir le chloroplatinate de la base, et la seconde, consacrée au dosage total de l'azote par la chaux sodée.

7. CALCULS BILIAIRES.

Les calculs biliaires sont des concrétions que l'on rencontre ordinairement dans la vésicule biliaire et qui peuvent passer dans l'intestin par l'intermédiaire du canal cholédoque et provoquer le plus souvent des coliques hépatiques.

Masius (1) cependant en a trouvé dans divers organes d'un enfant ictérique; ils étaient formés presque uniquement de bilirubine critallisée. Schultzen et Liebreich (2), de leur côté, ont constaté des concrétions analogues portant un noyau central de cholestérine et de matières colorantes biliaires, entouré de phosphate de chaux, d'urée et d'une couche d'acide urique, dans la vessie d'une femme, sans que l'urine analysée au moment de la lithothricie ne révélât la moindre trace de principes biliaires ni de cholestérine.

Leur nombre peut varier de 1 à 100 et même au delà. Leur poids est généralement inversement proportionnel à la quantité : il oscille entre $0^{gr},5$ et $4^{gr},5$.

Leur aspect est très variable : tantôt ils sont blancs ou jaune cireux, ovoïdes ou bosselés, translucides ou opaques; tantôt ils se présentent sous forme de tonneau, avec une cassure cireuse sans trace de cristallisation. On y reconnaît parfois des paillettes cristallisées de cholestérine enchâssées dans une gangue de matière colorante; d'autres fois ils sont constitués par des couches alternatives et bien distinctes de cholestérine amorphe et de matières colorantes. Dans certains cas on n'y trouve que du mucus et de la bilirubine avec traces seulement de cholestérine; dans d'autres enfin ils sont d'un gris sale, à structure amorphe, très durs et ne se laissent pas rayer à l'ongle.

(1) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1878, p. 261.
(2) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1876, p. 151.

Cholestérine, matières organiques, sels fixes. — Pour rechercher d'une manière sommaire les quantités de cholestérine, de matières organiques et de sels fixes qu'ils renferment, on prend un poids déterminé du calcul, finement pulvérisé et on l'épuise par l'éther absolu. Les solutions éthérées sont évaporées. Le résidu donne le poids de la cholestérine.

La partie non dissoute est chauffée modérément d'abord, et incinérée plus tard, puis pesée. Ce résidu constitue donc la somme des sels fixes.

En retranchant leur poids ainsi que celui de la cholestérine du poids primitif, on obtient la totalité des matières organiques.

En employant successivement l'alcool éthéré, l'éther et l'eau bouillante, l'acide chlorhydrique et le chloroforme, et en traitant convenablement les diverses solutions ainsi obtenues, on parvient à séparer les divers éléments compris dans l'analyse sommaire précédente, sous la rubrique « matières organiques ».

1. L'alcool éthéré, en effet, dissout les *corps gras* et des traces de cholestérine seulement.

2. L'éther, employé après coup, enlève la totalité de la *cholestérine*.

3. L'emploi de l'eau bouillante fournit d'une part une solution A dans laquelle se trouvent le glycocholate de soude, les autres matières biliaires solubles et les sels solubles, et un résidu insoluble B qui contient la chaux, certaines matières organiques et le restant des matières colorantes insolubles.

Solution A. — Pour déterminer le poids de ces divers éléments, on évapore la moitié de la solution A jusqu'à siccité, on prend le résidu et l'on incinère. La différence des pesées donne le poids des *sels solubles* et *des matières biliaires solubles dans l'eau.*

L'autre moitié est évaporée également et reprise par l'alcool; la solution concentrée, traitée par l'éther, fournit un précipité de *glycocholate de soude.* Le *résidu* B est traité par l'acide chlorhydrique qui dissout la *chaux* et certaines *matières organiques.* En évaporant à sec, incinérant et pesant, on peut obtenir le poids de ces dernières. Quant à la chaux, elle est déterminée directement par la précipitation, au moyen de l'oxalate d'ammoniaque de la solution chlorhydrique des cendres.

La partie non dissoute par l'acide chlorhydrique est lavée, desséchée et épuisée par le chloroforme. On obtient ainsi :

1° Une solution *a* renfermant la *bilirubine* et la *bilifuscine*, que l'on sépare en épuisant par l'alcool le résidu de la solution chloroformique; la bilifuscine seule se dissout;

2° Un résidu insoluble *b* dont on enlève la *bilifuscine* par l'alcool. La partie non dissoute est formée par de la *bilihumine.*

Les cendres des calculs biliaires présentent toujours une réaction alcaline très prononcée. Cette alcalinité provient, en majeure partie, de combinaisons organiques de la chaux avec les pigments et acides biliaires, car l'analyse des calculs avant l'incinération ne révèle qu'une quantité de chaux, sous forme d'oxalate, bien inférieure à celle que l'on obtient après cette opération.

L'analyse des calculs d'une même vésicule montre qu'en général leur composition est à peu près identique et permet de conclure que, presque toujours, ils sont de formation simultanée; ils ont d'ailleurs tous le même poids.

Lorsque les calculs se sont formés à des époques différentes, leur poids et leur composition chimique diffèrent, mais ceux qui présentent une composition semblable possèdent également le même poids (*Ritter*).

§ VI. — SUC INTESTINAL ET CONTENU DE L'INTESTIN.

A. SUC INTESTINAL.

Le suc intestinal est le produit de sécrétion des glandes en tubes de Lieberkühn et de Brunner.

Obtenu à l'aide de fistules, il contient un liquide très fluide, limpide, jaune clair, à réaction fortement alcaline.

Il renferme de l'eau, des matières albuminoïdes et d'autres composés organiques, puis des sels fixes formés en majorité par des carbonates alcalins.

Comme il jouit de propriétés digestives très accentuées, il doit renfermer les éléments nécessaires au dédoublement des composés amylacés et à la peptonisation des matières albuminoïdes. Mais les nombreuses expériences contradictoires de Bidder et Schmidt, Thiry et Leube, Eichhorst et Paschutin, ne nous ont pas encore fait connaître les méthodes parfaites pour la préparation de ces divers ferments. L'étude chimique, relative aux principes constitutifs de ce liquide, reste donc encore à faire.

Quant à l'analyse des divers éléments y contenus, elle peut s'effectuer d'après la méthode générale d'analyse des sérosités.

B. CONTENU INTESTINAL.

Le contenu intestinal ou *chyme* est l'espèce de bouillie contenue dans l'intestin après les repas.

Il renferme des produits de transformation des substances alimentaires, c'est-à-dire des matières dissoutes, ainsi qu'un grand nombre d'autres matières non digérées, non digestibles et même indécomposables. On y trouve en outre des substances qui résultent de la décomposition des liquides digestifs; du suc gastrique, du mucus et de la salive qui proviennent de l'estomac; du suc pancréatique, de la bile et du suc intestinal fournis par l'intestin grêle.

Le chyme de l'intestin grêle présente une réaction tantôt acide, tantôt alcaline, mais le plus souvent neutre. Il se distingue du chyme stomacal par la ténuité de ses particules solides, la finesse des gouttelettes graisseuses et par sa coloration jaune spéciale due à la présence de la bile.

Les parties maintenues en suspension dans le liquide proviennent de gouttelettes graisseuses, de grains d'amidon, de débris de fibres musculaires, de débris osseux, de restes de cartilage, de tissus végétaux, de tissus élastiques et épithéliaux; puis enfin, de savons calcaires, de produits de décomposition de matières biliaires de nature résineuse, de cholestérine et de mucus.

La partie liquide du chyme renferme de la glucose, de la saccharose, dans le

cas où il a été pris comme aliment, de l'acide lactique, des lactates, quelquefois de l'acide butyrique, de la taurine, de la leucine, des sels ammoniacaux, des peptones, des acides biliaires et des matières colorantes biliaires.

Le contenu du gros intestin ne renferme plus que peu de matières solubles e se rapproche de plus en plus par sa composition de celle des fèces. On y rencontre des quantités variables d'indol et de skatol, et des colonies considérables de microbes et de bactéries.

L'analyse du contenu intestinal pourra se faire d'après la même méthode que celle indiquée plus loin à propos de l'analyse des fèces.

C. CALCULS INTESTINAUX.

On rencontre quelquefois dans l'intestin des concrétions sphériques ou ovales, de grandeur variable, de couleur jaune ou jaune brun, formées de couches concentriques, à noyau central. Celui-ci est le plus souvent constitué par un corps étranger, tel que : pépin de fruit, fragment d'os, morceau de silice ou d'un corps dur quelconque.

Ces calculs sont formés généralement de phosphate ammoniaco-magnésien, de phosphate de calcium et de matières grasses; quelquefois aussi de cholestérine et de pigments biliaires.

Dans le cas où la concrétion se forme ensuite de l'existence d'un coagulum sanguin ou d'un dépôt fibrineux, on y trouve principalement des composés albuminoïdes. Les calculs, dans lesquels dominent les restes d'aliments, contiennent des masses de débris de cellules et de fibres végétales cimentées par du mucus intestinal.

L'analyse de ces dépôts exige toujours l'emploi du microscope. Quant à la méthode à suivre pour y déceler les principes constitutifs chimiques, elle est la même que celle que l'on emploie pour l'analyse des excréments.

Il existe enfin une espèce de concrétion intestinale très rare, connue sous le nom de bézoard, mais dont nous n'avons pas à nous occuper puisqu'on ne la trouve que chez certains ruminants d'Asie et d'Amérique. Elle est formée principalement d'acideslithofellique et lithobilique (1) associés à du mucus.

D. FÈCES.

GÉNÉRALITÉS.

Les fèces contiennent le résidu non digéré et non absorbé des aliments ainsi que des proportions variables des produits de sécrétion du tube digestif.

On y trouve donc des matières solides et liquides. La quantité de ces matières est d'autant plus considérable que le séjour des aliments dans l'intestin est de plus courte durée; elle varie avec leur affinité pour l'eau, avec les substances qui proviennent des réactions et avec leur vitesse de diffusibilité à travers les parois de l'intestin.

(1) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1879, p. 244.

Principes constitutifs normaux. — Les composés que l'on rencontre normalement dans les fèces de l'homme sont : de l'*eau*, du *mucus*, quelquefois de faibles proportions de *principes albuminoïdes*, des *sels biliaires*, *tauro- et glychocolate de sodium*, des *matières colorantes biliaires*, des *matières grasses*, des *acides gras volatils*, tels que l'acide butyrique, l'acide isobutyrique, l'acide acétique, l'acide lactique à l'état de sels alcalins, de l'*hématine*, de la *cholestérine*, de la *chlorophyllane*, du *phénol*, de l'*indol*, du *skatol*, de l'*amidon*, de la *glucose*, des *matières gommeuses*, de la *kératine*, de l'*élastine*, de la *nucléine* et enfin des *sels fixes* formés de chlorures de potassium et de sodium, des carbonates et sulfates alcalins, des phosphates terreux, du phosphate ammoniaco-magnésien, du phosphate de fer et de la silice; des *débris épithéliaux*, des *cellules végétales*, des *grains amylacés*, des *faisceaux musculaires*, des *fibres du tissu conjonctif*, des *globules graisseux*, des *débris de tissu adipeux*, des cristaux de *phosphate amoniaco-magnésien*, des *champignons* en voie de prolifération et des amas plus ou moins nombreux de *bactéries*.

Dans les *fèces pathologiques* on trouve, à côté de ces mêmes éléments, des *matières albuminoïdes* en proportion beaucoup plus considérable, souvent beaucoup plus d'*hématine*, de *matières colorantes biliaires* et de l'*urée*. Les selles de cholériques contiennent une proportion de *chlorure de sodium* supérieure au poids total des matières organiques, de la *leucine* et de la *tyrosine*.

Les *fèces des nourrissons* renferment des *graisses* et des *savons*, principalement des oléates, un peu moins de palmitates et de stéarates; des *peptones* en petite quantité. On y rencontre aussi de la *mucine*, de la *bilirubine*, de la *biliverdine*, de la *cholestérine*, de l'*acide cholique* et de l'*acide lactique*, des traces de *ferments pancréatique* et *diastasique*.

Le *méconium*, c'est-à-dire le contenu intestinal du fœtus à terme, excrété après la naissance, constitue une masse presque noire de nature poisseuse, sans odeur fétide et d'une saveur fade. Sa réaction est souvent acide et rarement neutre.

Il contient le quart environ de son poids de matières solides formées principalement de *mucus et d'épithélium*, des *matières biliaires*, des *corps gras* et de la *cholestérine*. On y trouve, en outre, des sels fixes avec prédominance de sulfates; les phosphates et chlorures y existent en moins grande proportion.

A. Analyse qualitative et quantitative des fèces.

α. Fèces normales.

Hoppe-Seyler a indiqué une méthode générale pour la recherche des principes chimiques contenus dans les fèces qui consiste à opérer de la manière suivante :

Mucine. — On prend une certaine quantité de matière que l'on transforme en bouillie liquide au moyen d'un volume déterminé d'eau, on y ajoute un même volume d'eau de chaux, on jette sur filtre et l'on précipite le liquide filtré par de l'acide acétique. On recueille sur filtre le précipité obtenu, on le lave à l'eau aiguisée d'acide acétique, on dessèche, on pèse et l'on rapporte à la totalité des fèces le poids de la mucine ainsi déterminé.

Acides biliaires. — Une autre partie des fèces est épuisée par de l'alcool. Au bout d'un certain temps de contact, on filtre les liquides et l'on distille. Lorsque la majeure partie de l'alcool a passé à la distillation, on ajoute à la solution aqueuse de l'acide chlorhydrique et puis de l'hydrate de baryte en excès. On dirige dans le liquide un courant d'acide carbonique et l'on fait bouillir. On filtre à chaud, on épuise le précipité à plusieurs reprises par de l'eau et l'on réunit les eaux de lavages. Cela fait, on concentre la solution et on l'abandonne au repos. Il se dépose au bout d'un certain temps un précipité de cholalate de baryte et il reste en dissolution du taurocholate et du glycocholate de baryte.

Dans cette opération, les acides gras combinés à la baryte, c'est-à-dire les oléate, stéarate et palmitate de baryum restent sur filtre en même temps que le carbonate.

Pour caractériser les taurocholate et glycocholate de baryum, il suffit d'ajouter à la solution de l'acide sulfurique et une trace de solution sucrée pour obtenir la succession de couleurs variant du rouge cerise au violet (réaction de Pettenkofer).

Urobiline. — On ajoute aux fèces de l'alcool et quelques gouttes d'acide sulfurique. On filtre, on ajoute à la solution un même volume d'eau et une certaine quantité de chloroforme. On agite le mélange dans un entonnoir à robinet et l'on soutire le liquide inférieur.

La solution est jaune brunâtre; à un certain degré de dilution elle est jaune; plus étendue encore elle paraît rosée. Elle présente une fluorescence verdâtre qui devient plus prononcée quand on y ajoute quelques gouttes de chlorure de zinc et un petit excès d'ammoniaque.

Examinée au spectroscope, elle présente une bande d'absorption très foncée, à contours mal délimités entre le bleu et le vert, correspondant aux raies *b* et F.

Quand on ajoute à ses solutions ammoniacales un peu de chlorure de zinc, de manière à redissoudre le précipité primitif, on remarque que la solution fortement fluorescente fournit au spectroscope la bande d'absorption très foncée des solutions alcalines, nettement arrêtée du côté du rouge et dégradée au contraire vers la partie plus réfrangible du spectre.

La quantité d'urobiline des fèces de 24 heures peut s'élever jusqu'à $0^{gr},36$, d'après les observations spectophotométriques de Vierordt (*Jahresb. f. Thier Chem.*, 1875, p. 152).

Méhu (1) obtient l'urobiline en ajoutant à la bouillie aqueuse des fèces filtrées du sulfate d'ammoniaque additionné d'acide sulfurique à 2 p. 100.

Les fèces renferment, outre l'urobiline, un dérivé des acides biliaires, d'aspect noir et résineux dont la solution alcoolique saturée de chlorure de zinc n'est pas dichroïque. L'examen spectroscopique ne révèle pas de bande d'absorption dans le bleu, mais dans le violet.

La *stercobiline*, que Masius et Vanlair avaient envisagée comme matière colorante spéciale des fèces, en raison de son spectre d'absorption, n'est autre chose que de l'urobiline. Les différences optiques signalées par les auteurs sont dues uniquement aux concentrations plus ou moins grandes des liquides sur lesquels ont porté les observations.

(1) *Journ. de pharm. et de chim.*, 1878, t. II, p. 158.

Acides gras volatils, phénol, indol, skatol.— On fait avec les fèces une nouvelle bouillie liquide et on distille le tiers du produit, soit A la partie distillée et B la matière qui reste dans la cornue.

A. *Liquide distillé.* — On le sursature avec du carbonate de soude et on distille le phénol, l'indol et le skatol se rendant dans le récipient (*liquide* α), tandis que les acides gras (acétique, butyrique) restent dans la cornue sous forme de composés sodiques.

On reprend le produit distillé (*liquide* α), on y ajoute de la potasse, en léger excès, et l'on distille de nouveau. On obtient de la sorte l'indol et le skatol.

La séparation des deux peut se faire, d'après Salkowski (1), en se basant sur la différence de leurs propriétés physiques et chimiques.

Le skatol est plus facilement entraîné par la vapeur d'eau que l'indol, donc en opérant la distillation avec ménagement on peut l'obtenir presque complètement dans les premiers produits.

Leurs degrés de solubilité dans l'eau diffère assez notablement : l'indol y est très soluble, tandis que le skatol l'est très peu au contraire.

Leurs points de fusion varie d'environ 40°, puisque le skatol ne fond qu'à 92° tandis que l'indol fond déjà à 52°.

L'*indol* peut se reconnaître dans le *skatol* au moyen de l'acide nitrique chargé de vapeurs nitreuses, qui ne colore pas le skatol isolément, mais qui fait apparaître une coloration rouge intense avec l'indol.

Une réaction plus sensible encore, indiquée par Legal (2), permet de reconnaître une très faible proportion d'indol dans le skatol. On traite la solution par du nitroprussiate de sodium jusqu'au moment où elle est jaune, on ajoute quelques gouttes de soude caustique diluée et l'on obtient aussitôt une coloration violette magnifique qui passe au bleu par addition d'un acide.

Le skatol ne se comporte pas de même. Le liquide reste jaune en solution alcaline; il ne change pas de couleur au moment de l'addition d'un acide à froid, mais quand on le traite par le quart de son volume d'acide acétique cristallisable et qu'on chauffe à l'ébullition, il prend peu à peu une teinte violette. Ce composé violet se dissout aisément dans l'éther acétique et peut être enlevé au mélange par agitation dans un entonnoir à robinet.

B. *Résidu de la cornue.* — Le tiers de la bouillie primitive ayant été retiré par distillation, il reste dans la cornue les deux autres tiers qui renferment une grande quantité de produits solides. Pour les séparer et les analyser isolément, on commence par concentrer le liquide après l'avoir sorti de la cornue, on le sursature par de l'acide sulfurique et on le traite d'abord par de l'alcool, puis par de l'éther. On obtient de cette façon une solution éthéro-alcoolique qui contient des acides gras libres, des corps gras, de la cholestérine, des acides biliaires, des glucosides, peut-être de l'hématine et de la chlorophyllane, tandis que la partie insoluble dans ce véhicule peut contenir de la nucléine, de la kératine, de l'élastine, de la cellulose, des matières gommeuses amylacées ainsi que des débris d'éléments organisés de toute nature, des micro-organismes, des bacilles et des bactéries.

(1) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1884, p. 506.
(2) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1884, p. 507.

Nous examinerons successivement ces deux résidus.

I. *Partie soluble dans le mélange d'alcool et d'éther* pouvant contenir des *acides gras libres*, des *corps gras*, de la *cholestérine*, des *acides biliaires*, des *glucosides*, de la *chlorophyllane* et de l'*hématine*.

On sursature le liquide avec du carbonate de soude, on chasse l'alcool et l'éther par distillation, on ajoute de l'eau et l'on reprend la solution par de l'éther dans un entonnoir à robinet. On soutire de cette façon les corps gras de la cholestérine. On distille le liquide éthéré et l'on saponifie le résidu au moyen de la potasse alcoolique; puis on reprend le savon par l'eau, on le verse dans un entonnoir à robinet avec de l'éther, on agite à plusieurs reprises et l'on obtient finalement dans la couche éthérée la totalité de la *cholestérine* qui n'avait pas été attaquée par la potasse lors de la saponification.

Quant aux *savons* dissous, on peut reconnaître la nature de leurs acides au moyen des procédés connus.

La solution alcalinisée par le carbonate de soude provenant de la précédente opération est additionnée d'acide sulfurique puis soumise à la distillation. Le liquide qui passe peut renfermer des *acides gras volatils* qui ont échappé à la distillation faite au début de ces traitements.

Le résidu de la cornue peut contenir des acides *acétique*, *palmitique* et *stéarique*, ainsi que des *acides biliaires*. Ces derniers se reconnaissent facilement à l'aide de la réaction Gmelin. Quant aux autres, on peut constater leur présence après refroidissement du liquide et formation d'une couche huileuse ou solide à la surface.

Pour constater si l'extrait renferme ou non des *glucosides*, il suffit d'examiner la solution au moyen de la liqueur de Barreswil.

L'*hématine* peut être caractérisée dans l'extrait éthéro-alcoolique au moyen de ses bandes d'absorption.

II. *Résidu insoluble dans le mélange éthéro-alcoolique*. — Ce résidu peut contenir des *matières amylacées* et *gommeuses*, de la *cellulose*, de la *nucléine*, de la *kératine* et de l'*élastine*.

On traite le résidu par de l'eau bouillante et l'on filtre. On reconnaît la présence de l'amidon au moyen de l'iode.

Si l'on n'obtient pas de coloration bleue, on fait bouillir le liquide avec de l'acide sulfurique dilué, on sature de nouveau avec de la soude et l'on traite par la liqueur cupro-potassique. S'il y a réduction, on peut en conclure que la solution primitive contenait soit de l'*amidon*, de la *dextrine* ou de la *gomme*.

Pour caractériser la *cellulose* on traite le résidu, insoluble dans les réactifs précédents, par de l'acide sulfurique concentré, on triture dans un mortier et l'on fait bouillir ensuite dans 20 fois son poids d'eau; on concentre de nouveau, on sature par du carbonate de soude et l'on examine à l'aide du réactif de Barreswil s'il y a eu ou non formation de glucose.

La présence de la *nucléine* peut être décelée de la manière suivante : une partie des fèces, épuisée par l'alcool et l'éther, est additionnée d'acide chlorhydrique et traitée à plusieurs reprises par le mélange acide. Après lavage suffisant, on dessèche la masse et on la chauffe vigoureusement avec un mélange de nitre et de soude caustique. On reprend le résidu de la fusion par l'eau et l'on examine

si la solution renferme ou non de l'acide phosphorique. Dans le cas où l'analyse révèle sa présence, ce dernier ne peut provenir que de la nucléine. Le traitement qu'on a fait subir à la matière avait pour but d'enlever tous les composés phosphatés solubles et insolubles, à l'exception de celui qui est caractérisé par la réaction ci-dessus.

β. Fèces pathologiques.

L'analyse des fèces pathologiques n'est pas sans importance; on doit tenir compte tout d'abord de leur *couleur* et de leur *consistance*.

La couleur *noire* peut indiquer l'absorption d'une préparation minérale, transformée par le sulfure d'ammonium en sulfures colorés insolubles, mais elle peut tenir également à du sang modifié. La coloration noire disparaît dans le premier cas par l'addition d'un acide.

La coloration *verte*, que l'on observe souvent chez les enfants à la suite d'une purgation par le calomel, serait due à de l'oxysulfure vert de mercure ou à une sécrétion plus abondante des matières colorantes de la bile.

Les fèces *décolorées* ou *grisâtres* indiquent l'absence de bile dans le canal intestinal. Elles peuvent être colorées en *rouge*, *brun* ou *noir* sous l'influence du sang, suivant les modifications que ce dernier aura subies dans son passage à travers les diverses parties du tube digestif. On doit s'assurer si le sang est répandu d'une manière uniforme dans toute la masse ou s'il ne forme que des stries extérieures.

L'examen spectroscopique démontrera la nature du principe colorant.

La *consistance* des excréments fournit également des indications précieuses relativement à leur richesse en eau ou en graisse.

La recherche du *pus* et du *mucus* se fait au moyen du microscope.

Quant à celles des autres principes : matières albuminoïdes, hématine, matières colorantes biliaires qui peuvent s'y trouver en proportion plus considérables que dans les fèces normales, il suffit de se reporter au tableau analytique précédent.

γ. Méconium.

La recherche qualitative et quantitative du méconium peut avoir son importance au point de vue médico-légal surtout.

Les taches de méconium sont d'un brun verdâtre et se laissent assez facilement détacher des tissus à l'aide de légères frictions. Elles ne marquent pas d'une manière sensible sur le revers du tissu à cause de leur consistance épaisse. Elles sont sans odeur et n'en développent pas après un traitement préalable à l'eau.

Chauffées avec l'acide sulfurique dilué, elles dégagent une odeur manifeste, tout différente de celle des excréments de l'homme.

La partie soluble dans l'eau constitue un liquide jaune verdâtre filant, difficile à filtrer, renfermant en suspension des masses brunes à réaction neutre. La solution ne se trouble pas à l'ébullition et donne un louche persistant en présence de l'acide acétique en excès.

L'acide azotique azoteux donne la réaction caractéristique des matières colorantes biliaires (réaction de Gmelin).

Avec un mélange d'acide sulfurique et de sucre, on obtient la réaction des

acides biliaires, mais jamais avec toute sa netteté (réaction de Pettenkofer).

Quand on ramollit la tache suspecte avec de l'eau et un peu de potasse caustique, on obtient une solution trouble d'un brun jaunâtre qui développe à la chaleur une odeur semblable à celle de la bile de bœuf.

Traitées par de l'alcool aqueux, les taches fournissent une solution jaune verdâtre précipitable par l'acétate neutre de plomb. L'acétate triplombique fournit un nouveau précipité dans la liqueur filtrée.

L'éther ne se colore pas en présence de ces taches au bout d'un temps plus ou moins long; mais quand on évapore le liquide éthéré, on obtient un résidu de matières grasses.

Pour doser, au besoin, l'un ou l'autre principe du méconium, on pourrait suivre en tous points la méthode de Hoppe-Seyler pour l'analyse quantitative des fèces de l'homme.

B. Analyse microscopique des fèces.

Indépendamment des principes constitutifs des fèces que nous pouvons retrouver à l'aide des réactifs chimiques, il en est d'autres qui nous sont révélés par le microscope seulement. La constatation de ces derniers, dans beaucoup de cas, n'est pas moins utile que celle des premiers et peut même, le plus souvent, avoir une importance capitale, tant au point de vue de l'hygiène publique que de la pathologie générale.

On sait depuis longtemps que les fèces humaines renferment des éléments organisés, cellules ou débris de cellules végétales, granulations amylacées épithélium des parois intestinales, globules graisseux, fibrilles du tissu musculaire et du tissu conjonctif, etc., etc.; mais dans ces derniers temps l'attention s'est portée surtout sur l'examen de champignons, de micrococcus et de bactéries qu'on y rencontre quelquefois en grand nombre et cela surtout dans des conditions pathologiques.

Dans le méconium de fœtus à terme, mort-nés, on n'a pas trouvé trace de germes. Dans d'autres cas, quatre ou sept heures après la naissance, on a pu y constater la présence de bactéries.

Au bout de 24 heures l'apparition de ces dernières devient très manifeste, leur développement s'accentue de plus en plus et donne naissance à des espèces distinctes. Celles-ci se présentent alors sous forme de bâtonnets fins de 4 à 7 μ qui, lors de leur prolifération, produisent des spores elliptiques, sous forme bacillaire, offrant la plus grande analogie avec les bacillus subtilis, ou enfin à l'état de micrococcus dont l'injection hypodermique chez le cobaye et le lapin ne joue aucun rôle pathogénique.

Quand l'alimentation lactée du nourrisson est établie, les micro-organismes des fèces sont remplacés par une seule espèce caractérisée par des bâtonnets courbes, de 1 à 5 μ de long et de 0,3 à 0,4 μ de diamètre, exécutant des mouvements très lents et qui provoquent en peu de temps l'acétification du lait et la fermentation alcoolique de la glucose. A côté des *Bact. coli commune*, ainsi que les appelle Escherlich (1), s'en produit plus tard une nouvelle espèce, *Bact. lactis*

(1) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1885, p. 514.

aérogène, très voisine du bacille de l'acide lactique, mais qui diffère néanmoins de ce dernier par un certain nombre de caractères.

Le Bact. lactis aérogène, dont le siège principal est l'intestin grêle s'y développe au dépens du sucre de lait, mais disparaît plus tard et fait place au Bact. coli commune que l'on trouve aussi bien dans le méconium que dans les fèces de l'adulte.

Les fèces normales de l'homme contiendraient, d'après Bienstock (1), rien que des bacilles, dont les espèces, au nombre de cinq, se différencient entre elles tant par leur forme que par leur mode de développement. Deux de ces espèces examinées isolément présentent la plus grande analogie avec le *bacillus subtilis*, mais leur disposition en colonies prend un aspect tout différent. Leurs spores se colorent de la même manière que celles du bacille de la tuberculose de Koch. Elles ne sont point pathogènes et n'ont aucune action sur les liquides sucrés.

La troisième espèce est caractérisée par sa ténuité extrême, par son inactivité fermentative et ses propriétés pathogéniques pour le lapin.

Dans l'espèce suivante, l'auteur comprend le bacille qui provoque la décomposition des matières albuminoïdes. Ses colonies d'un aspect nacré, ses spores sphériques d'abord et ellipsoïdiques, plus tard, leur disposition sous forme de chapelet dont les chaînons isolés sont susceptibles de se transformer en autant de filaments extrêmement ténus, constituent ses propriétés physiques. Quant à son rôle chimique, le bacille en question agirait sur la molécule albumine et fournirait non seulement les produits ultimes de dédoublement mais encore toute la série intermédiaire.

La pratique opératoire pour la reconnaissance des divers bacilles dont il vient d'être question, consiste à prélever dans une selle molle, à l'aide d'une aiguille stérilisée, une certaine quantité de matière, à l'ajouter à un volume d'eau préalablement stérilisée, contenant une solution faite avec 1,5 p. 100 de agar-agar, de 1 p. 100 de peptone, 0,5 p. 100 d'extrait de viande et du carbonate de soude jusqu'à légère alcalinisation. On porte à l'étuve à 37-39° et après un temps plus ou moins long on procède à l'examen microscopique.

On prélève une gouttelette du liquide et l'on procède ultérieurement comme pour le préparation des bacilles contenus dans les crachats pathologiques.

§ VII. — ANALYSE DE LA SUEUR.

1. GÉNÉRALITÉS.

Le produit de la sécrétion cutanée constitue un liquide incolore plus ou moins limpide d'une odeur variable, suivant la région qui le fournit et d'une saveur généralement salée.

La majorité des auteurs (2) s'accordent à dire que sa réaction est acide, mais qu'elle varie avec le genre d'alimentation et l'espèce animale.

(1) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1884, p. 492.

(2) Fubini, *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1878, p. 234. — Ansemino, *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1879, p. 195.

Trümpy et Luchsinger (1), en reprenant cette question controversée, ont opéré sur des sujets, parfaitement appropriés à ce genre d'expérience (nettoyage au savon, lavages prolongés à l'alcool, à l'éther, puis à l'alcool et à l'eau), et constaté que la sueur, provoquée par l'injection de 0gr,1 de pilocarpine, présentait toujours une réaction alcaline. Le creux de la main était la région du corps qui fournissait l'alcalinité la plus prononcée.

COMPOSITION DE LA SUEUR.

I. *Principes constitutifs normaux.*

La sueur contient à l'état normal des *sels inorganiques* que l'on trouve généralement dans les cendres du sang : *chlorures de sodium* et de *potassium*, *phosphates alcalins*, *sulfates alcalins*, *phosphates terreux* et *phosphate de fer;* de l'*urée* en petites quantités, des *acides gras volatils : formique; acétique, butyrique* et *propionique*, libres ou combinés aux alcalis, de la *créatine* (2), des débris de *cellules épithéliales* et enfin des *bactéries*.

II. *Principes anormaux ou pathologiques.*

A côté de ces éléments, il y en a d'autres encore, plus rares et dont la présence par conséquent n'est pas constante : tels sont l'*albumine*, les *sels ammoniacaux*, les *lactates*, *diverses matières pigmentaires*, la *leucine*, la *tyrosine* et l'*acide valérianique*.

L'*acide urique*, la *glucose* et les *matières colorantes biliaires* ont été décelés dans les sueurs pathologiques.

2. ANALYSE QUALITATIVE ET QUANTITATIVE DE LA SUEUR.

Pour déterminer la nature des principes chimiques contenus dans la sueur, il suffit d'appliquer la méthode générale que nous avons indiquée en parlant de l'étude des sérosités.

Les seules additions que nous ayons à faire à ce chapitre se rapportent à la recherche de la créatine, d'après le procédé Th. Weyl (3) et à celle des *bactéries*.

On évapore la sueur, dans le vide, de manière à lui enlever la totalité de l'eau, on reprend le résidu sec par l'alcool, on traite par l'eau et l'on filtre. On évapore de nouveau, puis on traite par de l'eau et du nitroprussiate de sodium. On ajoute ensuite, goutte à goutte, une solution étendue de soude caustique et l'on obtient, s'il y a de la créatine dans la liqueur, une coloration rouge rubis très manifeste.

Les colorations rouge et bleu que présente la sueur, dans certains cas, sont restées pendant fort longtemps une véritable énigme pour les chimistes. Tout récemment, un savant étranger à pu faire avancer un peu ce point obscur, en

(1) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1878, p. 231.
(2) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1882, p. 190.
(3) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1882, p. 190.

constatant, à l'aide du microscope, que la coloration rouge de la sueur prise sous l'aisselle était liée à la nature des poils de la région. Ces poils étaient minces, cassants et entourés sur une grande partie de leur longueur d'une gaine d'aspect strié. La striation était le résultat de superposition d'amas considérables de *bactéries* cimentées pour ainsi dire dans une substance fondamentale amorphe. Cette dernière, de couleur rouge, se comporte d'une manière spéciale à l'égard des réactifs : avec l'acide sulfurique, elle donne une coloration violette, puis bleuâtre; avec l'amoniaque, une coloration jaune qui disparaît sous l'influence d'un acide pour redevenir rouge.

L'alcool absolu dissout complètement cette matière colorante.

§ VIII. — ANALYSE DE LA MATIÈRE SÉBACÉE.

1. GLANDES DE LA PEAU.

Le produit de sécrétion des glandes sébacées de la peau constitue à l'état frais une masse oléagineuse, semi-fluide, qui se concrète à la surface de la peau ou dans les canaux excréteurs de la glande sous forme d'une masse blanche caséeuse et poisseuse.

On y distingue, à l'aide du microscope, des amas de *cellules graisseuses*, des *débris d'épitéliums* et des *cristaux* aplatis sous forme de tables rhombiques ou de fines aiguilles.

L'analyse chimique y révèle la présence de l'*eau*, d'un *composé albuminoïde* analogue à la caséine, de la *palmitine*, de l'*oléine*, de *palmitates* et d'*oléales*, de *cholestérine*, de *sels inorganiques* formés en majeure partie de *chlorures* et de *phosphates alcalins*.

2. FOLLICULES PILEUX.

Le produit de sécrétion de follicules pileux renferme à peu prés les mêmes éléments.

Schmidt et Vogel y ont trouvé en effet environ 617 p. 100 d'*albumine* et de *débris épithéliaux;* 41 p. 100 de *palmitine* associée à de la *cholestérine;* 12 p. 100 d'*acides gras*, à peu près autant de *sels inorganiques* et 317 p. 100 d'*eau*.

3 GLANDES DU CONDUIT AUDITIF EXTERNE.

Le cérumen contient, d'aprés Pétrequin, de l'*oléine*, de la *stéarine*, une grande quantité de *savon de potasse*, un *composé albuminoïde* insoluble et une *matière jaune, amère*, très soluble dans l'eau.

4. GLANDES DU PRÉPUCE.

Le produit de sécrétion préputiale présente une composition analogue.

(1) *Jahresb. f. Thier Chemie*, 1882, p. 342.

§ IX. — ANALYSE DU PUS.

1. PRINCIPES CONSTITUTIFS.

Le pus est formé de corpuscules analogues, sinon identiques, aux globules blancs du sang, nageant dans un sérum limpide, ordinairement jaunâtre.

Les éléments figurés contiennent des matières albuminoïdes, de la cholestérine, de la lécithine, de la cérébrine, des graisses et des sels minéraux (Hoppe-Seyler) (1); leur noyau renferme une substance cornée, de la nucléine et de sulfo-nucléine (Miescher) (2).

Le sérum renferme des matières albuminoïdes, des matières extractives, telles que leucine, urée et sucre, et quelquefois des éléments spéciaux : matière colorante bleue, gélatine, chondrine et acide chlorrhodique.

2. ANALYSE ET RECHERCHE DES PRINCIPAUX ÉLÉMENTS.

Séparation des globules de pus. — On peut isoler les globules du pus par le filtre ou par des solutions salines, telles que le sulfate de soude ou le nitrate de baryum. Le chlorure sodique transformant ces éléments en une masse gélatineuse ne peut être utilisé. Aprés un temps de repos suffisant, les globules se déposent au fond d'un liquide qui constitue le sérum du pus mélangé à la solution saline qu'on a employée.

Séparation des noyaux des globules de pus. — On peut isoler les noyaux des globules de pus de plusieurs manières.

On épuise les globules par de l'éther, puis par de l'alcool bouillant, et l'on fait digérer le résidu insoluble à 40° avec le produit de la macération de la muqueuse d'un estomac de porc dans de l'acide chlorhydrique au 1/100e. Au bout de 18 à 24 heures, on sépare le sédiment grisâtre qui est au fond de la solution de peptone, on le lave à l'eau et à l'alcool, puis on le dissout dans une solution étendue de carbonate de soude ou de soude caustique. Il reste une partie insoluble analogue á de la corne, tandis que la nucléine et la sulfo-nucléine se dissolvent et peuvent être reprécipitées par l'acide chlorhydrique sans excès, mélangé de la moitié de son volume d'alcool. Le précipité lavé à l'alcool devient insoluble. M. Miescher n'est pas encore arrivé à séparer nettement la nucléine de la sulfo-nucléine.

M. Hoppe-Seyler (3) traite les globules de pus isolés à l'aide de sulfate de soude par de l'acide chlorhydrique très étendu, lave avec beaucoup d'eau et dissout le résidu dans une solution alcaline, puis précipite la nucléine par l'acide chlorhydrique, et lave à l'eau, puis à l'alcool.

Analyse du sérum du pus. — Le sérum séparé des globules par filtration ou simple repos, avec ou sans addition de sulfate de soude, est additionné d'acide

(1) Hoppe-Seyler, *Med. Chem. Unters.*, p. 486.
(2) Miescher, *Med. Chem. Unters.*, 1870, t. IV, p. 441.
(3) Würtz, *Chim. physiol.*, p. 141.

acétique très étendu; il se forme un précipité de matière albuminoïde qui se comporte à l'égard de l'acide chlorhydrique et de chlorure de sodium comme une globuline.

Le liquide filtré, porté à l'ébullition, donne un coagulum d'albumine analogue à celui du sérum. Le nouveau liquide privé de matières albuminoïdes est consacré à la recherche des matières extractives qu'on détermine d'après la méthode générale indiquée à propos de l'analyse des sérosités (p. 172).

Recherche de la pyocyanine. — Le pus des vieilles plaies est souvent coloré par une matière bleue qu'on a attribué à des vibrions particuliers et que Fordos a nommée pyocyanine. On l'extrait des linges de pansements colorés en bleu en les faisant macérer pendant 24 heures dans de l'alcool étendu ; on filtre le liquide coloré en vert et l'on distille; le résidu de la cornue se dissout en partie dans l'alcool chaud qui se colore en beau vert. La solution étendue d'eau est épuisée par le chloroforme qui dissout entre autres substances la matière bleue. La solution chloroformique est traitée par l'acide sulfurique très étendu jusqu'à coloration rouge très intense. On sépare la couche aqueuse colorée qui surnage le chloroforme, on la sature d'eau de baryte jusqu'à coloration bleue, on filtre et on lave le précipité barytique. On épuise les liquides filtrés par le chloroforme et l'on abandonne la solution chloroformique à l'évaporation spontanée; la pyocyanine cristallise en aiguilles microscopiques ou en lamelles rectangulaires (Lucke) (1).

Recherche de l'acide chlorrhodique. — Le pus est évaporé à siccité et le résidu pulvérisé, épuisé successivement par l'éther, l'alcool et l'eau. L'extrait aqueux traité par l'acétate triplombique donne un précipité qu'on lave et décompose par l'hydrogène sulfuré; la solution filtrée, évaporée à sec, laisse un résidu qu'on épuise par l'alcool bouillant. Le liquide alcoolique filtré et évaporé laisse cristalliser l'acide en fines aiguilles, mélangées d'une certaine quantité de chlorure de sodium (Boedecker) (2).

(1) Langenbeck, *Arch. f. Chirurg.*, t. III, p. 135.
(2) Bœdecker, *Zeitschr. f. rat. Med. N. F.*, t. VI.

CHAPITRE V.

ANALYSE DES TISSUS ET ORGANES DE L'ÉCONOMIE.

§ I. — TISSU OSSEUX, SUBSTANCES DENTAIRES ET CONCRÉTIONS CALCAIRES.

1. COMPOSITION DU TISSU OSSEUX.

Le tissu osseux comprend, outre les os proprement dits, les substances dentaires et les concrétions calcaires ou ossifications qui se composent tous, sauf l'émail des dents, d'une trame de tissu collagène dans les mailles de laquelle se trouvent disséminés, comme éléments minéraux essentiels, des phosphates et carbonates de chaux et de magnésie, avec des traces de chlore et de fluor. Le phosphate de fer n'existe pas dans les os frais et bien nettoyés, mais on l'a trouvé en proportion notable dans les dents fossiles.

L'émail des dents ne contient presque pas d'eau; il renferme à peine 4 p. 100 d'un tissu organique membraneux brun qui ne donne pas de gélatine par la coction.

La proportion de chlorure contenue dans les os et les dents est si faible qu'on peut la négliger dans une analyse approximative. Dans l'émail des dents le chlore existe à l'état de chlorure de calcium combiné au phosphate de chaux comme dans l'apatite. Enfin l'on a signalé la présence de l'acide lactique dans les os d'une ostéomalacie.

Comme on le voit, la composition des os est assez constante pour qu'il soit inutile de procéder à une analyse qualitative préliminaire.

2. EXTRACTION ET DOSAGE DES MATIÈRES ORGANIQUES.

1° *Tissu collagène.* — Pour reconnaître la présence de la matière collagène, on débarrasse soigneusement les os des attaches tendineuses qu'ils portent, on les réduit en poudre avec une râpe, et l'on épuise par l'alcool et l'éther pour enlever les graisses. Le résidu est mis en macération à froid dans de l'acide chlorhydrique au 1/10e; après un contact suffisant pour la dissolution complète des sels cal-

caires, on lave la partie insoluble avec de l'eau jusqu'à ce que le nitrate d'argent ne précipite plus les eaux de lavage, puis on fait bouillir la pulpe qui reste avec de l'eau dans un ballon, ou mieux on la chauffe pendant 24 heures avec de l'eau dans un tube fermé, au bain-marie à 100°. On filtre le liquide bouillant, on lave, on concentre et l'on abandonne au frais. Au bout d'un certain temps la matière collagène se prend en gelée.

On distingue la gélatine de la chondrine par les réactions suivantes : la solution additionnée d'acide acétique laisse la chondrine se précipiter; le liquide filtré ou décanté, traité par le cyanure jaune, abandonne alors la gélatine. Le précipité acétique de chondrine se redissout dans les sels alcalins.

Le dosage des matières collagènes se fait en enlevant le périoste des os, pulvérisant à la râpe et desséchant à 100°. On prend un poids déterminé de la matière pulvérulente sèche, on l'épuise par l'éther, puis par l'acide chlorhydrique et l'on fait bouillir la partie insoluble avec de l'eau, comme il a été indiqué ci-dessus. On évapore à sec les solutions gélatineuses, on dessèche complètement à l'étuve à 105° et l'on pèse.

2° *Matières grasses.* — Le résidu de l'évaporation des solutions éthérées représente les graisses que l'on peut peser, puis analyser comme il est dit (p. 276).

3° *Matières organiques totales et eau.* — On prend une partie de la poudre de l'os bien nettoyé, on la pèse, puis on la dessèche à 105°; la perte de poids représente l'*eau*.

On incinère ensuite le résidu sec jusqu'à ce qu'il devienne blanc, on l'additionne d'un peu de carbonate d'ammoniaque en poudre et on chauffe à basse température jusqu'à volatilisation complète du sel. Le carbonate de chaux qui a été transformé en chaux pendant la calcination des matières organiques est régénéré. On pèse de nouveau; la perte de poids représente la matière organique.

3. ANALYSE DES ÉLÉMENTS MINÉRAUX DES OS.

1. On dissout un poids déterminé de cendres d'os obtenues par la calcination, dans de l'acide azotique dont on chasse l'excès au bain-marie. Le résidu est repris par de l'eau, additionné d'acétate de sodium qui substitue l'acide acétique à l'acide nitrique; il est consacré au dosage de la chaux totale après traitement par l'oxalate d'ammonium (p. 292).

2. Le liquide filtré est additionné d'ammoniaque qui précipite le phosphate de magnésium.

3. On dose l'acide phosphorique combiné à la chaux dans le nouveau liquide filtré, par l'addition de sulfate de magnésium (p. 292); on calcule alors la quantité de phosphate de calcium qui correspond au poids de l'acide phosphorique trouvé, 1 gramme de Ph^2O^5 représentant $2^{gr},1831$ de $(PhO^4)^2Ca^3$.

4. On dose par la pesée l'acide carbonique contenu dans un poids déterminé de poudre d'os desséchée (p. 293), et l'on calcule la quantité de carbonate de chaux qui lui correspond; 1 de CO^2 représente 2,2727 de CO^3Ca.

5. Enfin du poids total de la chaux donné par (1), on déduit la chaux fixée par l'acide carbonique et l'acide phosphorique, et l'on transforme l'excédant par

le calcul, en *fluorure de calcium*, sachant que 1 de CaO représente 1,39286 de $CaFl^2$. Cette manière de procéder est aussi exacte que celle qui consiste à doser le fluor en le volatilisant à l'état de fluorure de silicium (Ritter).

On pourra, si l'on veut, doser le chlorure par le nitrate d'argent dans la solution azotique de la poudre d'os bien dégraissée à l'éther.

§ II. — ANALYSE DU TISSU MUSCULAIRE.

1. COMPOSITION DU TISSU MUSCULAIRE.

Le muscle est formé par la réunion de fibres à enveloppe de nature élastique, le sarcolemme, contenant pendant la vie et après la mort, alors que le muscle est encore excitable par l'électricité, un plasma liquide, à réaction alcaline, qui se coagule spontanément, et se sépare en myosine solide et en un liquide séreux qui est devenu acide.

Cette modification dans la réaction du plasma est indépendante de la coagulabilité, car on peut coaguler le plasma en présence de l'eau, le sérum restant alcalin et l'excitation continue du muscle vivant lui donne une réaction franchement acide.

Après la mort, le muscle contient, à côté de la matière collagène du tissu conjonctif périfibrillaire, de la myosine coagulée, de l'albuminate de potasse, de l'albumine coagulable à 47° et une autre variété coagulable à 75°, comme celle du sérum, de la créatine, de la créatinine (qui résulte probablement de la déshydratation de la créatine), de la sarcine, de la xanthine, du sucre fermentescible, du glycogène qui disparaîtrait après la mort parce qu'il est transformé en glucose, de l'inosite, de la dextrine (chez le cheval), de la taurine (poisson et cheval), de l'acide inosique (canard, oie, lapin, etc.), de l'acide lactique, de l'acide urique, des graisses, des acides gras volatils (formique, acétique, butyrique), de l'acidé protique (poissons); des matières colorantes : hémoglobine (Kühne) (1), pigment jaune de Struve (2), acide salmonique de la chair du saumon (Fremy, Valenciennes).

Les éléments minéraux sont : le chlorure de sodium, le sulfate et le phosphate de potassium, des phosphates de calcium et de magnésium, du fer, de la lithine (traces), enfin des gaz : oxygène et acide carbonique.

2. EXTRACTION ET ANALYSE DU PLASMA DES MUSCLES.

On peut obtenir le plasma musculaire liquide et alcalin en suivant la méthode imaginée par Kühne (3). On tue des grenouilles dont on abandonne les muscles à —10° pendant 2 heures environ. On les déchiquette finement et on les broie

(1) Kühne, *Arch. f. Pathol. Anat.*, t. XXXIII, p. 79.
(2) Struve, *Bull. de la Soc. chim.*, Paris, 1877, p. 84.
(3) Kühne, *Untersuch. über das Protopl. Med. Contract*, p. 79.

au pilon. Après la dégélation, on filtre la masse à travers un linge assez fin, et l'on obtient un liquide opalescent alcalin, coagulable à la température ordinaire et présentant les réactions de la myosine. Après la coagulation de la myosine, il reste un résidu acide qui renferme les trois variétés d'albumines solubles mentionnées précédemment. En effet, l'addition faite avec précaution d'acide acétique dilué donne un précipité d'albuminate alcalin, soluble dans le phosphate de soude. Le liquide filtré neutre ou faiblement acide donne un premier coagulum à 47°, et un second à 75°.

Si l'on opère sur les muscles d'animaux supérieurs et sur des muscles contractiles, il faut les injecter rapidement avec de l'eau salée à 1/100 pour éliminer le sang et les traiter comme précédemment, avant que la réaction soit devenue acide, ou tout simplement les triturer avec une petite quantité d'eau froide ; on soumet le liquide obtenu aux réactions indiquées (Kühne) (1).

La *myosine* séparée par coagulation du plasma musculaire est caractérisée par les réactions suivantes : insolubilité dans l'eau, solubilité dans le chlorure de sodium au 1/10e, précipitation de cette solution par addition de chlorure de sodium solide ou d'un excès d'eau ; la solution salée est coagulée à 55-60°, ainsi que par l'addition d'acide azotique ou acétique, dont un excès ne la redissout pas.

3. ANALYSE QUANTITATIVE DU TISSU MUSCULAIRE.

On débarrasse le muscle des éléments étrangers comme pour la préparation de l'extrait aqueux. On en prend un poids déterminé qu'on pèse, puis qu'on dessèche à 105° pour doser l'*eau*. Le résidu sec finement divisé est épuisé par l'éther qui dissout les *graisses*. La partie insoluble est pesée, puis incinérée avec les précautions nécessaires (p. 288) ; on pèse les *cendres* dont on fait ensuite l'analyse. D'autre part, on épuise par l'eau froide une seconde partie de matière hachée finement, on fait bouillir l'eau de lavage pour éliminer l'albumine, on filtre, on évapore le liquide, on dessèche à 105° et on le pèse (p). On reprend l'extrait sec par l'alcool ; l'évaporation des solutions alcooliques donne l'extrait alcoolique (p'), dont le poids retranché de p donne le poids de l'extrait aqueux.

On peut doser la *matière collagène* en prenant un poids déterminé de résidu du muscle épuisé par l'eau froide, qu'on fait bouillir avec de l'eau au bain-marie dans un tube fermé ou même dans une marmite de Papin à 120-130°. On jette le produit sur un filtre taré chauffé au bain-marie, on lave à l'eau bouillante et l'on obtient ainsi la gélatine, par évaporation des solutions et dessiccation du résidu, tandis que sur le filtre restent les parties insolubles dans l'eau bouillante qu'on peut encore peser par dessiccation.

4. PRÉPARATION ET SÉPARATION DES MATIÈRES EXTRACTIVES.

Les muscles, privés de sang par une injection de chlorure de sodium de 1 p. 100 dans les vaisseaux, sont soigneusement débarrassés des aponévroses, tendons,

(1) Kühne, *Arch. f. Pathol. Anat.*, t. III, p. 79.

nerfs, vaisseaux et graisses; on les réduit en menus morceaux au couperet ou à la machine à hacher, on délaye la pâte dans cinq à six fois son poids d'eau et on laisse macérer 12 heures au frais. On passe à travers un linge, puis on exprime à la presse. On reprend de nouveau la masse exprimée par une nouvelle quantité d'eau, on laisse reposer quelques heures et l'on filtre encore. On épuise enfin le résidu par l'eau jusqu'à ce qu'il ait pris une teinte grisâtre et que l'eau de lavage soit incolore. Les liquides d'expression et de lavage renferment tous les éléments solubles du muscle, qu'on sépare les uns des autres par la méthode exposée plus loin.

Séparation des principes extraits par l'eau froide. — Un certain nombre de méthodes, toutes très complexes, ont été proposées par MM. Liebig, Stœdeler, Neubauer, etc., pour la séparation des matières extractives du muscle (1). Nous n'en indiquerons qu'une seule, générale, très voisine de celle de Neubauer (2) et qu'on peut également appliquer à l'extrait de viande (*Extractum carnis*, Liebig) (3).

Les eaux du lavage de la viande, fait à froid, sont portées à l'ébullition, pour coaguler les albumines qui entraînent avec elles la matière colorante du sang.

Le liquide est filtré, concentré, et additionné d'un léger excès d'acétate neutre de plomb qui précipite les chlorures, phosphates, sulfates et l'acide urique (*a*).

On filtre et l'on traite le liquide par du sous-acétate de plomb ammoniacal; le nouveau précipité renferme l'inosite, la dextrine, le sucre musculaire et un peu de sarcine (*b*).

Le filtratum correspondant est débarrassé de l'excès de plomb par un courant d'hydrogène sulfuré, évaporé à sirop au bain-marie et abandonné au frais. La créatine se sépare en petits cristaux qu'on lave à l'alcool à 88° et qu'on purifie par le noir animal; on concentre de nouveau le liquide qui peut donner un nouveau dépôt de créatine. Les eaux mères de la créatine sont acidulées par l'acide sulfurique et agitées à différentes reprises avec de l'éther qui dissout l'acide sarcolactique. La solution éthérée, évaporée et saturée à chaud par le carbonate de zinc, puis refroidie après filtration, donne du sarcolactate de zinc cristallisé dont on fait l'analyse.

Le nouveau liquide acide est concentré pour chasser l'éther, neutralisé par l'ammoniaque, puis traité par le nitrate d'argent ammoniacal. Il se forme un précipité floconneux qu'on lave avec de l'ammoniaque, puis avec de l'eau; on le dissout ensuite dans l'acide azotique de densité 1,10 et l'on concentre. Il se dépose des cristaux d'azotate d'hypoxanthine et d'argent. Les eaux mères sont précipitées par un excès d'ammoniaque et le précipité lavé est décomposé par l'hydrogène sulfuré. On filtre bouillant; la xanthine cristallise par refroidissement.

On peut extraire l'acide urique du premier précipité plombique (a) en le décomposant par l'hydrogène sulfuré, filtrant à l'ébullition et laissant refroidir; l'acide urique cristallise dans le liquide acide. On pourrait le doser au besoin à l'aide du permanganate (voir *Urines*, p. 78).

(1) Voir Hoppe-Seyler, *Chimie analytique*, trad. française, p. 514 et 517.
(2) Neubauer, *Zeitschr. für anat. Chemie*, 1863, p. 26; 1867, p. 33.
(3) Ritter, *Chimie pratique*, 1874, p. 374.

Le précipité basique de plomb (*b*) renferme l'inosite, le sucre musculaire et un peu de sarcine. On le délaye dans l'eau pour le décomposer par l'hydrogène sulfuré; on filtre le liquide acide dont on précipite la sarcine par l'acétate de cuivre. On élimine l'excès de cuivre du liquide filtré par l'hydrogène sulfuré, on filtre et l'on concentre à consistance sirupeuse; on ajoute six à dix fois son volume d'alcool et l'on agite. Par le repos, il se forme un précipité qui renferme l'inosite qu'on caractérise en particulier par la coloration rose qu'elle donne par évaporation sur une lame de platine, après traitement successif par l'acide azotique pur et par un mélange d'ammoniaque et de chlorure de calcium (Schérer). On pourrait le purifier d'après la méthode décrite au chapitre des urines (p. 99).

La solution alcoolique traitée par une solution concentrée de potasse donne un précipité de sucrate qui, repris par l'alcool et l'acide tartrique, laisse déposer du bitartrate de potasse et donne une solution alcoolique dont on peut extraire le sucre à l'état cristallisé (Meissner).

Extraction et dosage du glycogène musculaire. — L'opération doit être faite sur le muscle récemment tué, sinon le glycogène serait transformé en sucre, et conduite de la même manière que pour le tissu du foie (p. 281).

La détermination de l'*urée* et de l'*ammoniaque* contenus dans les muscles se fait comme celle des liquides séreux (p. 191).

Remarque. — Les opérations relatives à l'analyse de l'extrait aqueux du tissu musculaire exigent au moins 3 kilogrammes de matière première, puisque 1.000 grammes de viande ne donnent que 12 grammes de principes solubles dans l'eau bouillante; c'est pour ce motif que les procédés indiqués par les divers auteurs ne sont pas généralement suivis. On se contente le plus souvent de données analytiques générales relatives aux quantités d'eau, d'extrait aqueux, d'extrait alcoolique, de matières insolubles dans l'eau froide, de matières insolubles dans l'eau chaude, finalement de cendres, sans se préoccuper du dosage des principes isolés.

§ III. — ANALYSE DU CERVEAU ET DES NERFS.

1. COMPOSITION DU TISSU NERVEUX.

La fibre nerveuse et la substance blanche sont neutres ou alcalines, aussi bien pendant la vie qu'après la mort. Les ganglions et la substance grise ont une réaction acide qui augmente après la mort et qui est due à la présence de l'acide lactique (Gscheidlen).

La gaine primitive des nerfs ou névrilemme est constituée par une solution voisine du tissu élastique, dont elle se distingue par sa plus grande solubilité dans les alcalis. Elle ne donne pas de gélatine par l'ébullition avec l'eau.

Le cylindre-axe des nerfs et les cellules nerveuses sont contitués par un stroma de matière albuminoïde voisine de la myosine et différente des globulines par son insolubilité dans l'eau; elle se dissout, en majeure partie, dans le chlorure de sodium au 1/15e, et la solution est précipitée par un excès d'eau et de sel marin (Petrowsky). On ne sait pas encore d'une façon certaine si, pendant la vie, cette substance est liquide comme la myosine dans le muscle.

L'analyse suivante de la pulpe cérébrale est due à Gobley (1875) : eau 80 p. 100, sels fixes 1 p. 100. La matière sèche contient 70 p. 100 de matière albuminoïde coagulée, 1 de cholestérine, 3 de cérébrine, 5,50 de lécithine, 1 d'albumine soluble, 1,5 de matières extractives (inosite, créatine, xanthine).

Il est établi aujourd'hui que la matière du cerveau et des nerfs contient en outre : une matière collagène, de la nucléine, de la névrokératine, de l'hypoxanthine, de l'acide lactique et des acides gras volatils, peut-être de l'acide urique, et, à l'état pathologique, de l'urée, de la leucine et des graisses.

Les éléments inorganiques sont constitués par de l'acide phosphorique libre provenant de la lécithine, des phosphates, surtout de potassium et de calcium, du magnésium, du fer, de la silice, des traces de sulfates alcalins, de chlorure de sodium et de fluor.

2. ANALYSE QUANTITATIVE.

On prend une certaine quantité de la substance nerveuse qu'on débarrasse avec soin de son enveloppe et qu'on pèse. On la dessèche ensuite dans le vide à la température ordinaire, au contact de l'acide sulfurique; la perte de poids représente l'*eau*.

On prépare ensuite un *extrait alcoolique* et un *extrait éthéré*, comme pour le tissu musculaire (p. 271) et l'on incinère les résidus en présence d'une quantité pesée de carbonate de soude qui maintient au maximum d'oxydation l'acide phosphorique des phosphates et de la lécithine; on obtient ainsi les *cendres*.

La dessiccation de la matière nerveuse et de ses extraits alcoolique et éthéré ne peut être effectuée à chaud, à cause de l'extrême altérabilité de la cérébrine et de la lécithine qui se décomposent déjà au-dessus de 70°.

3. SÉPARATION DES PRINCIPES IMMÉDIATS DE LA SUBSTANCE NERVEUSE.

La masse broyée est épuisée par de l'alcool fort à froid; les solutions alcooliques filtrées sont évaporées à sirop et épuisées par l'éther; on épuise de même par l'éther la pulpe insoluble dans l'alcool. Les résidus insolubles dans l'éther sont traités par l'alcool absolu bouillant qui dissout la *cérébrine;* cette substance se dépose par le refroidissement, mélangée à un peu de lécithine. On jette sur filtre, on lave à l'éther froid, puis on fait bouillir la partie insoluble avec de l'eau de baryte pendant une heure. On élimine l'excès de la baryte par un courant d'acide carbonique, puis on lave le dépôt à l'eau et à l'alcool froid, enfin on l'épuise par l'alcool bouillant qui enlève la cérébrine, laquelle se dissout après refroidissement. On lave à l'éther, puis on renouvelle le traitement de l'alcool pour purifier la substance.

La cérébrine est caractérisée par sa solubilité dans l'alcool bouillant, sa précipitation après refroidissement de la liqueur et son inaltérabilité en présence de la baryte à chaud. Elle se gonfle lentement dans l'eau froide, rapidement dans l'eau chaude à laquelle elle donne l'aspect de l'empois d'amidon; elle est insoluble dans l'alcool et l'éther à froid.

Les extraits éthérés renferment la majeure partie de la lécithine (une partie

s'est déposée de la solution alcoolique chaude de cérébrine avec cette dernière, dont elle a été séparée par la saponification barytique), la cholestérine et les corps gras. On procédera à la séparation de ces trois corps comme pour les liquides séreux, d'après la méthode de Hoppe-Seyler (p. 192).

Extraction de la nucléine et de la névrokératine. — La matière nerveuse est épuisée successivement par l'eau, l'alcool froid, l'éther et l'alcool bouillant. La partie insoluble est mise en digestion avec du suc gastrique artificiel à la température de 40°. On décante après 24 heures et on lave le résidu non digéré; on le traite ensuite par du carbonate de soude et l'on neutralise le liquide filtré par l'acide chlorhydrique faible qui donne naissance à un précipité floconneux de nucléine (Jacksch).

On met en digestion avec de la pancréatine la substance grise du cerveau et de la moelle épinière; les cylindres-axes et les cellules nerveuses se dissolvent. Le résidu insoluble qui résiste à l'action des réactifs et en particulier à l'acide sulfurique et à la potasse constitue la névrokératine (Kühne).

Extraction et séparation des matières extractives. — La masse cérébrale est triturée avec de l'eau jusqu'à bouillie liquide, additionnée d'acétate de plomb et abandonnée au repos. Si la quantité de sel de plomb est suffisante, on obtient après 12 ou 18 heures un liquide surnageant, limpide, de couleur rougeâtre. On passe au tamis et l'on fait bouillir le liquide jusqu'à réduction au 1/4; on filtre pour séparer le coagulum d'albumine, et l'on ajoute du sous-acétate de plomb qui précipite l'acide urique, l'hypoxanthine et l'inosite. Le filtratum est débarrassé de l'excès de plomb par un courant d'hydrogène sulfuré. On évapore la liqueur filtrée et l'on traite le résidu par un mélange d'alcool et d'un peu d'acide sulfurique; on élimine l'excès d'acide par le carbonate de baryte; on filtre, et dans le liquide on détermine la présence de l'acide lactique et de la leucine.

Le précipité plombique, décomposé par l'hydrogène sulfuré, sert à la recherche de l'acide urique et de l'inosite.

On peut d'ailleurs suivre, dans cette partie de l'analyse de la substance nerveuse, la méthode indiquée pour la séparation des principes extractifs du muscle (p. 271).

Analyse des cendres. — On a déterminé précédemment le poids des cendres laissées par l'incinération des divers extraits et du résidu insoluble de la substance nerveuse. Leur analyse est conduite suivant la méthode générale, en tenant compte du carbonate de soude ajouté pour maintenir le phosphate à l'état d'acide phosphorique.

§ IV. — ANALYSE DES TISSUS ADIPEUX ET DES CORPS GRAS.

I. EXTRACTION DES CORPS GRAS.

Le tissu adipeux, finement divisé, est desséché à 105° et le résidu épuisé dans un appareil à déplacement par de l'éther, puis par de l'alcool bouillant. Le liquide alcoolique évaporé à siccité laisse un résidu qu'on reprend par de l'éther.

Les solutions éthérées, mélangées, sont évaporées. Elles abandonnent après un repos plus ou moins prolongé les corps gras, les acides gras et la cholestérine (1).

2. SÉPARATION DES CORPS GRAS.

Les corps gras de l'économie humaine sont formés d'un mélange de palmitine, de margarine (contestée par Heintz), de stéarine et de oléine, auxquels s'ajoutent, dans les autres espèces et suivant l'origine de la graisse, de petites quantités de caprine, de capryline, de butyrine, etc. Dans certains cas d'ascite chyleuse, le liquide de ponction renferme, outre les corps gras essentiels de l'organisme humain, ceux qui caractérisent les graisses animales et qui proviennent alors de l'alimentation, comme la butyrine par exemple (Guinochet) (2).

Sans vouloir traiter complètement ce problème complexe de la séparation des principes gras pour la solution duquel on devra toujours recourir aux travaux de Chevreul (3) et de Heintz (4), nous nous bornerons aux indications essentielles des opérations que comporte l'analyse immédiate des corps gras.

On commence par employer les dissolvants neutres. En effet, l'alcool froid dissout l'oléine. Le résidu épuisé à l'ébullition par le même véhicule lui cède la stéarine qui se dépose la première par le refroidissement puis la palmitine; mais la séparation n'est jamais complète. Il faut dès lors recourir à des procédés chimiques.

On extrait les acides gras tout formés en traitant l'extrait éthéré par une solution de carbonate de potasse qui n'attaque pas les graisses. On évapore à sec et l'on épuise par l'éther qui dissout les graisses et la cholestérine, et laisse les savons insolubles (Ritter) (5).

On saponifie ensuite les corps gras par une solution alcoolique de potasse; le produit doit se dissoudre complètement dans l'eau. On évapore à siccité et l'on reprend par l'éther qui dissout la *cholestérine*.

Le résidu insoluble dans l'éther représente les savons qui proviennent des graisses, mélangés à l'excès de potasse. L'analyse de ces savons et la séparation des acides gras qu'ils renferment se fera de la manière suivante : dissoudre les savons dans l'eau, ajouter un léger excès d'acide sulfurique étendu et distiller jusqu'à apparition de fumées blanches. Les acides gras déplacés par l'acide sulfurique se divisent en deux groupes : l'un, contenant les acides butyrique, valérique, caprylique, et une partie de l'acide caprique qui passent dans le liquide distillé; l'autre, les acides fixes, stéarique, palmitique et oléique qui restent dans la cornue.

Le liquide distillé est neutralisé par la baryte, dont on élimine l'excès par un courant d'acide carbonique. On évapore à siccité; en reprenant ensuite par des

(1) Le procédé est intégralement applicable à l'extraction et à l'analyse des graisses contenues dans tous les tissus et liquides de l'économie animale.

(2) Guinochet, Démonstration de la réalité de l'ascite chyleuse, *Journ. de pharm. et de chim.*, 1866, t. XIV, p. 169.

(3) Chevreul, *Recherches chimiques sur les corps gras*, Paris, 1823.

(4) Heintz, *Gmelin's Handbuch*, t. XVI, p. 343 et 344.

(5) Ritter, *Manuel de chimie pratique*, 1874, p. 376.

quantités pesées d'eau, on sépare par différence de solubilité les butyrates, caprylate et caprate. Le sel obtenu du premier jet est soumis à son tour à des cristallisations nouvelles et ce n'est que lorsque la solubilité est constante et la proportion de baryum toujours identique qu'on aura un acide pur.

Pour déterminer la quantité de baryum, on calcine le sel et on évapore le résidu humecté d'acide sulfurique étendu, puis on chauffe au rouge et l'on pèse. Le poids de sulfate multiplié par 0,^{gr},79 donne le baryum contenu dans le sel.

100 d'acétate	contiennent	53,80	de baryum
— de propionate	—	48,41	—
— de butyrate	—	44,05	—
— de valérate	—	40,41	—
— de caproate	—	37,33	—
— de caprylate	—	32,39	—
— de caprate	—	28,60	—
— de palmitate	—	21,17	—
— de stéarate	—	19,49	—

Le résidu insoluble de la cornue, constitué par les acides fixes, est lavé à l'eau distillée, redissout dans l'alcool et traité par l'acétate de baryum. Le précipité des savons barytiques est lavé et desséché, puis épuisé par l'éther bouillant qui dissout l'oléate de baryum. Le mélange de palmitate et de margarate, décomposé par l'acide chlorhydrique chaud, perd ses acides gras qu'on recueille, lave à l'eau, dessèche et redissout dans l'alcool bouillant. Au liquide chaud on ajoute par petites quantités de l'acétate de baryum; le stéarate se dépose en premier lieu; une nouvelle quantité de réactif, versée dans le liquide filtré bouillant, précipite un mélange de stéarate et de palmitate; le dernier précipité est formé de palmitate presque pur. On recommence la précipitation proportionnée sur chacune des parties jusqu'à ce que l'on obtienne un sel pur caractérisé par la proportion constante de baryum et les points de fusion et de solidification de l'acide gras qu'on en extrait.

3. POINTS DE FUSION ET DE SOLIDIFICATION DES CORPS GRAS.

La détermination des points de fusion et de solidification des corps gras et des acides gras peut se faire de diverses façons dont voici les deux plus simples.

1. On introduit dans le corps fondu la boule d'un thermomètre à mercure qu'on retire et qui se recouvre, après refroidissement, d'un enduit blanc opaque. On suspend le thermomètre dans un grand vase de Bohême plein d'eau dont on élève progressivement et lentement la température, en mélangeant les diverses couches de liquide. On lit la température au moment où la couche opaque devient fluide et transparente; on éteint le bec de gaz et l'on détermine le point auquel la couche d'acide se fige en redevenant opaque.

2. Un procédé très pratique consiste à chauffer, avec un bec de Bunsen, une capsule en porcelaine remplie de mercure dans lequel on maintient, tout en l'agitant doucement, un thermomètre gradué en 1/10 de degré. On éloigne en-

suite la source de chaleur quand l'instrument se maintient pendant quelques minutes à 3 ou 4 degrés au-dessous du point de fusion du corps, déterminé par une expérience préliminaire. Puis on projette un fragment de la substance à la surface du liquide. On chauffe de nouveau avec précaution et aussitôt que le corps commence à fondre on examine le thermomètre. Après plusieurs opérations successives exécutées de la même façon, on prend la moyenne des indications qui constitue le véritable point de fusion demandé.

3. On introduit un petit fragment du corps dans un tube effilé dont la portion relevée sort du liquide. On accole à ce tube un thermomètre de façon que le réservoir soit au niveau du fragment et l'on chauffe comme précédemment. On lit la température au moment où le corps se fluidifie et coule dans la partie la plus déclive de la courbure. Ce dernier procédé convient au cas où l'on n'a que très peu de matière à sa disposition.

4. On peut encore, si l'on ne possède que des traces de corps gras, l'examiner au microscope muni de la chambre chaude de Vignal (1) dont on fait varier à volonté la température, ce qui permet de déterminer avec la plus grande exactitude le point de fusion et de solidification des graisses.

4. MATIÈRE COLORANTE DE LA GRAISSE HUMAINE.

La graisse humaine contient une matière colorante jaune en proportion variable, laquelle présente l'odeur et la saveur de la bile. On sépare facilement cette substance en épuisant la graisse par l'alcool bouillant, filtrant et précipitant par l'eau; elle reste en solution, mélangée à divers produits parmi lesquels on trouve un corps à fonction acide, du chlorure de sodium et des sels alcalins. Cette matière colorante est analogue, sinon identique, à celle que l'on trouve dans les graisses des diverses espèces animales (A. Gautier) (2) et ne serait peut-être que de la lutéine.

§ V. — ANALYSE DES ORGANES GLANDULAIRES : POUMONS, FOIE, PANCRÉAS, RATE, GLANDES SALIVAIRES, ETC.

1. GÉNÉRALITÉS.

Les connaissances relatives aux matériaux solides de ces glandes sont encore très incomplètes et il existe peu de travaux sur le dosage de ces éléments, en particulier des matières albuminoïdes et des ferments solubles qu'elles renferment. Il n'en est plus de même heureusement des principes solubles qui sont aujourd'hui bien étudiés; le poumon, la rate, le foie, les reins, les glandes salivaires contiennent un grand nombre des composés qui se trouvent dans le tissu musculaire : ce sont la créatine, la xanthine, l'hypoxanthine, la taurine,

(1) Catalogue de Wiesnegg, constructeur, 64, rue Gay-Lussac, Paris, 1887.
(2) A. Gautier, *Chimie physiologique*, t. I, p. 335.

l'inosite, l'acide lactique et des acides gras. On a trouvé de la tyrosine et de la leucine dans les glandes salivaires et dans le foie, où elles paraissent être un produit de régression des matières albuminoïdes et augmentent notablement dans certaines affections de cet organe. On a constaté de même la présence de l'acide urique dans le foie et la rate, celle de la guanine dans le pancréas, de la cystine dans le foie, de la nucléine dans le foie et dans diverses glandes (Plosz) (1).

Le foie renferme normalement des quantités notables de matière glycogène dont on a trouvé des traces dans le poumon, le cerveau et les testicules d'un diabétique (Grohé) (2), dans un poumon infiltré de pus, également chez un diabétique et dans les testicules du chien (Kühne) (3).

A l'état pathologique, le foie, les reins, la rate et le poumon sont le siége d'une dégénérescence amyloïde; les diverses glandes peuvent alors contenir de l'urée quand le rein ne fonctionne plus normalement.

Les sels minéraux des glandes sont les mêmes que ceux qu'on trouve dans les sérosités. Certains organes putréfiés renferment de petits points bleuâtres constitués par du phosphate de fer.

L'analyse quantitative des glandes au point de vue de l'eau, du résidu sec, des cendres, des extraits alcooliques et éthérés s'effectue de la façon déjà indiquée pour le tissu musculaire et nerveux, et ne présente rien de particulier.

2. SÉPARATION DES MATIÈRES EXTRACTIVES, MÉTHODE DE HOPPE-SEYLER.

L'analyse immédiate des matières extractives peut être faite d'après des méthodes diverses, en particulier d'après celle que nous avons décrite pour la séparation des matières extractives du muscle qui convient tout spécialement pour la recherche de la créatine, de la sarcine et de la xanthine. La suivante est recommandée par Hoppe-Seyler (4).

Les organes frais sont divisés ou écrasés par l'intermédiaire de fragments de verre; on en fait une bouillie avec de l'eau froide, on laisse macérer pendant quelque temps, on passe et l'on exprime, puis on épuise une seconde fois par l'eau. On fait bouillir les liqueurs réunies avec quelques gouttes d'acide acétique; on sépare par le filtre les matières albuminoïdes coagulées, puis on traite le liquide par l'eau de baryte tant qu'il se forme un précipité; on sature l'excès de baryte par l'acide carbonique, on fait bouillir, on filtre et l'on concentre le liquide. On réunit les pellicules superficielles au précipité barytique (a) dans lequel on recherchera l'acide urique et la xanthine. On abandonne au froid les liqueurs concentrées à un petit volume, mais non en consistance sirupeuse. La créatine se sépare en cristaux nets, tandis que la sarcine et la xanthine forment un dépôt boueux. On sépare les cristaux de créatine qu'on lave à l'alcool à 88° et qu'on purifie par cristallisation avec du noir animal.

Les eaux mères de la créatine sont traitées par de l'alcool bouillant et filtrées

(1) Plosz, *Arch. f. d. Ges. Physiol*, t. VII, p. 371.
(2) Grohé, *Der Chylus ein Ferment.*
(3) Kühne, *Arch. f. pathol. Anat.*, t. XXXII, p. 536.
(4) Hoppe-Seyler, *Chimie analytique*, p. 520.

sur un filtre chaud. On obtient ainsi une solution alcoolique (*b*) qui peut renfermer des acides gras, de l'acide lactique, de la leucine et des traces de tyrosine, du sucre (foie), de la créatinine, des traces d'inosite et d'acide succinique, puis une partie insoluble (*c*) qui contient de la xanthine, de l'hypoxanthine et de l'inosite.

La solution (*b*) est évaporée en consistance sirupeuse, traitée par l'acide sulfurique et distillée. Le produit distillé renfermant les acides gras volatils est traité comme il est dit (p. 178); le résidu épuisé par l'éther sert à la recherche de l'*acide lactique* et de l'acide succinique. A cet effet on évapore la solution éthérée, on reprend le résidu par l'eau et l'on sature le liquide par du carbonate de soude, on évapore à sec et l'on épuise par l'alcool absolu qui dissout le lactate et laisse le succinate insoluble.

Le résidu insoluble dans l'éther, neutralisé par l'ammoniaque, est traité par l'alcool bouillant; la solution alcoolique, concentrée en consistance sirupeuse, additionnée d'une solution alcoolique de chlorure de zinc, puis abandonnée au froid, laisse se déposer la combinaison de créatinine et de chlorure de zinc.

Les eaux mères sont évaporées pour chasser l'alcool, précipitées par le sous-acétate de plomb, et le liquide filtré par l'hydrogène sulfuré; on enlève le sulfure de plomb, on concentre les liqueurs filtrées, on épuise par l'alcool bouillant qui enlève la leucine. Le résidu contient de la tyrosine qu'on peut obtenir pure en la faisant cristalliser dans de l'eau bouillante ou dans de l'eau légèrement ammoniacale.

Le précipité (*c*) redissout dans l'eau chaude est traité par le sous-acétate de plomb; on obtient un nouveau précipité qui est lavé et consacré à la recherche de l'inosite et du sucre (foie) comme le précipité plombique du suc musculaire (p. 271). Les eaux mères débarrassées de l'excès de plomb par un courant d'hydrogène sulfuré sont évaporées en consistance sirupeuse et le résidu est réuni au précipité barytique (a), mis en suspension dans l'eau et additionné d'un excès d'acide acétique.

Au bout de 24 à 48 heures, on sépare le précipité d'acide urique et de xanthine qu'on traite par l'ammoniaque; la xanthine se dissout, tandis que l'urate ammonique reste insoluble. La solution ammoniacale évaporée laisse la xanthine comme résidu.

La solution acétique est évaporée à siccité, et le résidu dissout dans l'eau bouillante. Le liquide, traité par le nitrate d'argent ammoniacal, donne un précipité qui renferme l'hypoxanthine, et qu'on purifie comme il est dit (p. 272).

Neubauer (1) insiste sur les difficultés que l'on éprouve parfois à séparer la xanthine de l'hypoxanthine. En effet, la solution azotique chaude des combinaisons de ces deux corps laisse déposer à la fois par le refroidissement la xanthine et la sarcine. On reprend alors le précipité par l'acide nitrique bouillant additionné de quelques centimètres cubes de nitrate d'argent et l'on abandonne la solution au refroidissement. On reconnaît dans le précipité la présence de la combinaison argentique de xanthine, parce que les eaux de lavage conservent pendant longtemps une acidité très prononcée.

(1) Neubauer, *Zeitschr. f. Analyt. Chem., loc. cit.*

On doit, pour plus amples renseignements, recourir aux travaux originaux de Scherer (1) sur la rate et le pancréas, de Gorup-Bezanez (2) sur l'extrait aqueux des poumons, du foie, du thymus, de Stædeler et Neumann (3) sur la présence de la leucine et de la tyrosine dans ces divers organes, et de Meissner (4) sur la recherche de la sarcine, de la xanthine, de l'acide urique et de la créatine dans les glandes.

3. EXTRACTION ET DOSAGE DU GLYCOGÈNE.

Le foie renferme normalement une forte proportion de glycogène, résultat qui s'accorde avec sa fonction physiologique. Mais on a vu précédemment que cette matière existe également et constamment en petite quantité dans les muscles frais, surtout dans le cœur. Pour procéder à l'extraction du glycogène contenu dans l'un ou l'autre de ces organes on peut employer indistinctement l'une des deux méthodes suivantes :

1° **Procédé Cl. Bernard.** — D'après ce procédé, le premier en date, on divise le foie en lanières minces qu'on jette dans l'eau bouillante pour tuer le ferment saccharifiant. Les morceaux de foie sont triturés dans un mortier (avec du noir animal, Ritter), et mis en ébullition avec de l'eau pendant une heure environ. On exprime la matière et l'on filtre le liquide qui passe opalescent. Ce liquide est additionné de 4 à 5 volumes d'alcool à 95°; il se forme immédiatement un précipité blanc floconneux qu'on lave par décantation avec de l'alcool. Le glycogène, mélangé de matières azotées, est laissé pendant une demi-heure avec une solution très concentrée de potasse; on ajoute un peu d'eau et l'on filtre; on précipite de nouveau par 4 volumes d'alcool et on lave le précipité à l'alcool pour entraîner la potasse. On redissout dans l'eau, on sature le carbonate de potasse qui est resté mélangé au produit par de l'acide acétique et l'on précipite une dernière fois par l'alcool.

On peut encore traiter le précipité de glycogène impur, redissout dans l'eau, par de l'acide acétique cristallisable qui maintient les matières protéiques seules en dissolution.

2° **Procédé Brücke** (5). — Il s'applique à l'extraction du glycogène, du foie, des muscles, du cœur, etc., en même temps qu'à sa détermination quantitative. Les organes déchiquetés en menus morceaux sont mis en ébullition avec de petites quantités d'eau tout le temps que l'iode colore le liquide en bleu. Les solutions sont réunies et exactement neutralisées. On ajoute alternativement au liquide refroidi de l'iodhydrargyrate de potasse et de l'acide chlorhydrique tout le temps qu'il se forme un précipité de matières albuminoïdes; on filtre et l'on précipite par de l'alcool fort aussi longtemps qu'il se dépose du glycogène, en évitant un excès d'alcool qui à la fin précipiterait les corps étrangers. On filtre, on lave avec de l'alcool à 60 p. 100 jusqu'à ce que le filtratum ne se trouble plus par

(1) Scherer, *Ann. Chem. Pharm.*, t. CXII, p. 276.
(2) Gorup-Bezanez, *Ann. Chem. Pharm.*, t. LXXXIX, p. 114.
(3) Neukomm, *Uber das Vorkomm. von Leucin in Menschl. Körper*. Zurich, 1859.
(4) Meissner, *Zeitschr. f. Rat. Med.*, 1868, t. XXXI.
(5) Brücke, *Sitzungsb. d. Wien. Akadem.*, 1871, t. LXIII.

l'ammoniaque et la potasse étendues. On traite ensuite par l'alcool à 95°, puis par l'éther et de nouveau par l'alcool; enfin on dessèche dans le vide et l'on obtient une matière blanche, pulvérulente, qui se détache aisément du filtre.

Quand les organes sont difficiles à réduire en petits fragments, on les fait bouillir avec de l'eau contenant un peu de potasse caustique qui n'attaque pas le glycogène; mais il faut une plus grande quantité de réactif mercurique pour précipiter totalement les matières gélatineuses et albuminoïdes.

4. EXTRACTION ET DOSAGE DE LA SUBSTANCE AMYLOÏDE.

Cette substance pathologique découverte par Virchow (1) dans l'épaisseur des méninges et à l'origine des filets nerveux, où elle se trouve sous la forme de petits grains à couches concentriques écailleuses, a été trouvée depuis lors dans les organes les plus divers : poumon, rate, foie, reins, etc., à l'état de dépôts d'un aspect brillant et vitreux.

Pour l'extraire de ces organes (2), on les réduit en petits morceaux en enlevant les tissus accessoires, canaux sécréteurs, vaisseaux sanguins, etc.; on lave à l'eau froide, puis à l'eau bouillante pour dissoudre le tissu conjonctif, enfin à l'alcool et à l'éther qui éliminent les graisses et la cholestérine. Le résidu est bouilli avec de l'alcool aiguisé d'acide chlorhydrique, puis, mis en digestion avec du suc gastrique à 40°. Les fibres élastiques et le tissu cellulaire se dissolvent, ne laissant plus que la matière amyloïde qui est caractérisée par son insolubilité dans les dissolvants neutres et les acides étendus, par la coloration rougeâtre que lui donne l'acide et la coloration violette ou bleue qu'elle prend au contact d'un mélange d'iode et d'acide sulfurique.

Recherche et dosage de l'urée. — On épuise par de l'alcool les organes dilacérés; on exprime, on filtre et l'on soumet la solution alcoolique au même traitement que les extraits alcooliques des liquides séreux, des muscles, du sang, etc. (p. 271).

Recherche de la nucléine. — Le procédé d'extraction de la nucléine du foie est le même que celui qui est appliqué à la préparation de ce composé en parlant des globules du pus (p. 266).

Ajoutons pour terminer ce qui a trait à l'analyse des organes glandulaires que Plosz (3), en soumettant le tissu très frais du foie à la congélation, le divisant et l'exprimant ensuite selon le procédé indiqué par Kühne pour les muscles, a obtenu une solution de matière albuminoïde spontanément coagulable, comme la myosine, la nucléine et une matière albuminoïde coagulable à 45° existant d'ailleurs, d'après le même auteur, dans les diverses glandes.

(1) Virchow, *Arch. f. d. Ges. Physiol.*, t. XII, p. 317.
(2) Hoppe-Seyler, *Anal. chimiq.*, p. 291.
(3) Plosz, *Arch. f. d. Gesammte Physiol.*, t. VII, p. 371.

CHAPITRE VI.

RECHERCHE ET DOSAGE DES ÉLÉMENTS INORGANIQUES
CONTENUS DANS LES TISSUS ET LES HUMEURS.

L'analyse des éléments inorganiques des tissus et liquides de l'économie animale comporte : la détermination de la quantité d'eau, l'incinération ou la préparation des cendres et la détermination de leur poids, la détermination qualitative et quantitative des éléments de ces cendres et l'interprétation des résultats obtenus.

1. DÉTERMINATION DE LA QUANTITÉ D'EAU.

Il semble *a priori* qu'il soit bien facile de déterminer la quantité d'eau contenue dans un liquide ou un tissu; et qu'il suffise de chasser cette eau par évaporation à la température de 100°, et de déterminer la perte de poids. Néanmoins en pratique, la détermination rigoureuse de cet élément est presque impossible. En effet, certaines matières organiques que l'on rencontre fréquemment dans l'organisme, l'albumine, les matières collagènes, etc., ne perdent leur eau qu'avec une extrême lenteur, et la présence de sels déliquescents, chlorure de calcium, par exemple, ajoute une nouvelle difficulté à cette détermination. On ne peut d'ailleurs songer à dépasser notablement la température de 100° pour obtenir une dessiccation plus rapide et plus parfaite, car on court risque de décomposer certains éléments très altérables, ou de provoquer des réactions chimiques qui changent complètement la nature de l'extrait sec. C'est ainsi, par exemple, qu'il est impossible de doser exactement l'eau dans l'urine par évaporation à la chaleur, à cause de la décomposition que subit l'urée sous l'influence du phosphate acide de sodium qui la dédouble en acide carbonique et ammoniaque, tous les deux volatils (voir p. 53). Dans un autre cas, l'extrait sec d'un liquide, repris par l'eau laissera une partie insoluble; ce sera par exemple du carbonate de chaux qui avait été tenu en dissolution dans le liquide primitif, grâce à la présence de l'acide carbonique, actuellement éliminé par la chaleur, ou encore de l'albumine qui deviendra insoluble, parce que la dessiccation aura été effectuée au-dessus de 50°.

On a cherché, sinon à éviter complètement ces inconvénients, du moins à les réduire à leur minimum, en se servant de bains-marie sur lesquels on chauffe

à 100° les capsules contenant la substance à dessécher ou le liquide à évaporer, puis d'étuves à air à température constante (voir Frésénius, *Analyse quantitative*; Jungfleisch, *Manipulations de chimie*, etc.) permettant de maintenir aussi longtemps qu'on le veut une température uniforme de 105° au maximum (sauf pour les matières albuminoïdes qu'on doit chauffer à 120°) à laquelle on soumet la capsule dont le contenu a déjà perdu la plus grande partie de son eau au bain-marie. Au sortir de l'étuve, les capsules sont couvertes d'un mince obturateur en verre rodé et introduites sous un dessiccateur à acide sulfurique où elles se refroidissent à l'abri de l'humidité. On fait une première pesée après deux ou trois heures de chauffe à l'étuve, puis l'on continue à chauffer pendant une heure; on s'arrête si la nouvelle pesée ne diffère de la précédente que d'une quantité insignifiante, 1 milligramme par exemple, à moins qu'on n'ait opéré sur très peu de substance, auquel cas l'approximation doit être poussée plus loin.

On a conseillé aussi de faire l'évaporation dans des appareils clos permettant de recueillir les gaz produits par une altération partielle des substances organiques dans des liquides appropriés (voir *Urines*, p. 55).

Le seul procédé qui soit exact, mais malheureusement trop long, est celui de M. Magnier de la Source (1), plus ou moins modifié par divers auteurs (Gautier, etc.).

On pèse entre deux verres de montre bien rodés 1, 2 ou 3 grammes du liquide ou de la substance, on enlève le verre supérieur et l'on place le verre inférieur sous un dessiccateur à acide sulfurique dans lequel on fait le vide à l'aide d'une trompe d'eau. Au bout de 24 heures, on enlève l'acide sulfurique qu'on remplace par de l'anhydride phosphorique, et on laisse encore le même temps au bout duquel le résidu est le plus souvent complètement desséché; on refait la pesée entre les deux verres de montre et l'on obtient l'eau par différence.

On peut accélérer l'évaporation dans le vide en élevant la température du verre de montre à l'aide d'un serpentin parcouru par un courant de vapeur d'eau qui pénètre dans la cloche à dessiccation (Yvon) (2).

2. INCINÉRATION ET DOSAGE DES CENDRES.

En chauffant au rouge sur une lame de platine une parcelle de substance jusqu'à disparition complète du charbon, on obtient un résidu composé des éléments minéraux; on traite ce résidu par l'eau pour étudier sa solubilité et l'on essaie la réaction au tournesol.

La présence des éléments inorganiques ainsi révélée, on les isole en plus forte proportion pour procéder à leur analyse en calcinant une plus grande quantité de matière, qu'on a desséchée au préalable dans une capsule de platine pour la détermination de l'eau. Si la solution décrépite à la chaleur (matières albuminoïdes), on recouvre la capsule d'une lame de platine qu'on n'enlève que quand la décrépitation a cessé. La première impression de chaleur doit être conduite avec modération pour ne pas provoquer de dégagement de gaz trop brusque qui

(1) Magnier de la Source, *Bull. de la Soc. chim. de Paris*, 1876. t. XXV, p. 504.

(2) Yvon, voir catalogue de Wiesnegg, 1887.

entraînerait de la matière. On chauffe au rouge sombre sans toucher à la masse autrement qu'avec une spatule de platine, jusqu'à cessation de toute fumée, puis on laisse refroidir. On imbibe d'eau le charbon, on le pulvérise et on le fait bouillir avec une nouvelle quantité d'eau; on verse les eaux de lavage sur un petit filtre lavé à l'acide, on épuise de nouveau par l'eau, de façon à obtenir une solution aqueuse de tous les éléments solubles dans l'eau. On dessèche capsule et filtre, on introduit le filtre dans la capsule et l'on incinère jusqu'à disparition complète de charbon. On sépare ainsi par ce procédé les sels solubles des sels insolubles et l'on évite la volatilisation partielle des chlorures qui se produirait infailliblement pendant la combustion du charbon ainsi que la réduction des sulfates et des phosphates.

Malgré les précautions indiquées, il se produit toujours une perte de chlorures et de carbonates alcalins pendant le boursouflement de la substance quand celle-ci contient beaucoup de matières albuminoïdes, auquel cas on épuise d'abord par l'eau chaude la substance desséchée au bain-marie pour ne calciner que le résidu albuminoïde insoluble (voir *Sérosités*, p. 194).

Dans certains cas, il est inutile d'ajouter au préalable avant l'incinération certaines substances, variables suivant les cas, et destinées à éviter des pertes. Ainsi l'addition de carbonate de soude transforme les chlorures de calcium et de magnésium en chlorures alcalins plus fixes; le même sel ajouté à une substance organique contenant une combinaison organique phosphorée (lécithine, nucléine) maintient le phosphore à l'état de phosphate.

Dosage des cendres. — Ce dosage s'effectue facilement d'après les prescriptions du paragraphe précédent. On a séparé en deux parties les éléments inorganiques provenant d'un poids connu de substance primitive. Dans la capsule se trouvent les sels insolubles dans l'eau; on laisse refroidir sous la cloche à acide sulfurique et l'on pèse; l'augmentation de poids de la capsule représente les sels insolubles. On verse dans la même capsule la solution aqueuse des sels solubles dans l'eau avec toutes les eaux de lavage, on dessèche au bain-marie, puis à l'étuve à 105°, et l'on pèse de nouveau, après refroidissement sous le dessiccateur. On obtient ainsi le poids des sels solubles.

On tiendra compte, bien entendu, des sels étrangers tels que le carbonate de soude, par exemple, qu'on a dû ajouter pour obtenir une meilleure calcination, dans le cas de combinaisons organiques phosphorées.

3. ANALYSE QUALITATIVE DES CENDRES.

Le nombre des éléments que peuvent contenir les cendres des tissus et humeurs de l'économie animale est relativement restreint, comme le montre le tableau suivant :

Partie soluble.			*Partie insoluble.*		
Chlorures. . . Sulfates. . . . Phosphates. . Carbonates. .	des métaux suivants :	Calcium, Magnésium, Potassium, Sodium, Lithium.	Phosphates. . Carbonates. . Silicates . . .	des métaux suivants :	Calcium. Magnésium, Fer, Manganèse (cuivre, plomb).

A. Examen de la partie soluble.

Examinée au tournesol, la solution est presque toujours alcaline, réaction due à la présence de carbonates ou de phosphates alcalins.

On traite le liquide par de l'acide azotique jusqu'à réaction acide; un dégagement d'acide carbonique indique l'existence de carbonates.

Le liquide est divisé en deux parties pour la recherche des acides et des bases.

La première est subdivisée en trois portions qu'on traite successivement par les azotates de baryum et d'argent et le molybdate d'ammoniaque.

1. Si l'azotate de baryum fait naître un précipité blanc, il indique la présence de *sulfates;*

2. Le précipité blanc fourni par l'azotate d'argent indique celle de *chlorures;*

3. Enfin le traitement à 40-50° par un excès de molybdate ammonique acidifié par l'acide nitrique fournit un précipité jaune provenant des *phosphates.*

La seconde est divisée en deux portions qui servent à la recherche des métaux.

Première portion : on mélange du chlorure d'ammonium avec de l'oxalate d'ammonium et de l'ammoniaque; s'il se forme un précipité blanc immédiatement ou après agitation, cela indique la présence du *calcium.*

Le liquide, débarrassé par filtration de l'oxalate calcique, est traité par le phosphate de sodium: un précipité blanc indique celle du *magnésium.*

La deuxième portion est concentrée par évaporation. On en porte une goutte à l'aide d'un fil de platine dans la flamme d'un bec de Bunsen; s'il se produit une coloration jaune, il y a du *sodium.*

Le restant de la solution concentrée est additionné d'alcool, d'acide chlorhydrique et de chlorure de platine : il se forme un précipité cristallin jaune en présence du *potassium.*

Le liquide séparé par filtration du chloroplatinate de potassium est évaporé à sec au bain-marie, repris par quelques gouttes d'eau, et le produit final est examiné au spectroscope (p. 5) pour y rechercher la raie caractéristique du *lithium.*

B. Examen de la partie insoluble.

On la dissout dans l'acide chlorhydrique en la chauffant au besoin au bain-marie; on évapore à siccité, on chauffe légèrement à feu nu pour chasser tout l'acide chlorhydrique, puis on reprend le résidu par de l'acide chlorhydrique étendu à chaud; la silice reste insoluble. Elle doit se dissoudre complètement dans une solution concentrée de carbonate de soude.

Un dégagement de gaz pendant le premier traitement à l'acide est dû aux carbonates.

La solution chlorhydrique séparée de la silice est traitée par un excès d'ammoniaque décarbonatée et abandonnée au repos, à l'abri de l'air. On sépare par filtration les phosphates et les sels ferriques et manganeux (*b*).

Le filtratum (a) traité par l'oxalate ammonique laisse la chaux se précipiter; le liquide filtré additionné de phosphate de sodium abandonne à son tour la magnésie. Ces deux bases proviennent des carbonates terreux.

Si le liquide (*a*) était bleuâtre, il renfermerait des traces de cuivre qu'on éliminerait d'abord par un courant d'hydrogène sulfuré.

Le précipité (*b*) insoluble dans l'ammoniaque contient les phosphates, les oxydes de fer et de manganèse; on le lave à l'abri de l'air, puis on le dissout dans l'eau acidulée par l'acide azotique, sans excès. Le précipité est blanc s'il ne renferme que des phosphates terreux, jaunâtre s'il contient du phosphate ferrique, rougeâtre quand il est mêlé d'oxyde ferrique (cendres du sang).

Quelques gouttes de la solution sont traitées par le cyanure jaune qui donne un précipité bleu en présence d'un sel ferrique (éviter un excès d'acide azotique qui décomposerait à lui seul le réactif).

On élimine le fer en traitant la solution nitrique du précipité (*b*) par un excès d'acétate de sodium. Le phosphate ferrique insoluble dans l'acide acétique produit se précipite, les sels terreux restent en dissolution.

La solution acétique, filtrée et traitée par le chlorure ammonique et l'oxalate d'ammonium, abandonne la chaux du phosphate correspondant.

Le liquide filtré, additionné d'ammoniaque, donne un précipité de phosphate ammoniaco-magnésien s'il renferme du phosphate de magnésium.

La recherche du manganèse n'offre guère d'intérêt que pour les cendres du sang. On délaye le précipité ammoniacal (*b*) dans l'acide acétique et l'on porte à l'ébullition jusqu'à décoloration complète du liquide, ce qui précipite tout l'acide phosphorique et le fer. On filtre, on ajoute au liquide de l'ammoniaque en excès, puis du sulfure d'ammonium. On sépare le sulfure de manganèse, on le lave à l'eau sulfureuse, puis on le dissout dans l'acide chlorhydrique. On ajoute à la solution un peu de nitre, puis un léger excès de carbonate de sodium et l'on évapore à siccité. On calcine enfin sur une lame de platine: s'il y a du manganèse, il se produit une coloration verte.

Nous devons mentionner pour mémoire l'existence du *fluor* dans les cendres des dents. On décèle la présence de cet élément en traitant dans une capsule de platine les cendres par de l'acide sulfurique pur, et abandonnant sur une plaque chaude, après avoir recouvert d'une lame de quartz dont la face, en regard du mélange, est recouverte d'un enduit de paraffine sur lequel on a tracé quelques traits avec une pointe en bois. Après 12 heures, on dissout la paraffine, on essuie soigneusement la lame de quartz sur laquelle l'acide fluorhydrique a gravé en creux les traits dessinés avec le stylet.

α. Interprétation des résultats. — Les cendres ne présentent jamais la composition exacte des principes minéraux contenus dans les tissus et les liquides. Elles sont presque toujours alcalines, alors même qu'elles proviennent de liquides acides comme l'urine, ce qui tient à la présence, dans le produit primitif, de sels à acides organiques que l'incinération transforme en carbonates alcalins ou terreux.

La recherche de ces acides organiques doit être faite par des procédés particuliers avec les matières non incinérées.

Si les carbonates contenus dans les cendres ne préexistent pas forcément dans le produit primitif, il peut en être de même d'autres composés minéraux. Ainsi une partie des sulfates peut provenir de l'oxydation du soufre contenu dans certaines matières organiques, albumine, acide taurocholique, taurine, etc., ou

de dérivés sulfoconjugués (phénolsulfates). Il en est de même des phosphates qui peuvent provenir soit de composés organiques dans lesquels l'acide phosphorique existe tout formé (lécithine, acide phosphoglycérique), soit de substances renfermant du phosphore dans leur constitution (nucléine, hémoglobine du sang d'oie). Le fer lui-même peut exister à l'état de composé salin comme dans l'urine, ou sous forme d'une combinaison organique dont l'hémoglobine et l'hématine sont les types.

Les phosphates primitivement contenus dans les tissus sont eux-mêmes modifiés par l'incinération suivant leur degré de saturation; les phosphates tribasiques seuls restent inaltérés; les sels acides sont transformés en métaphosphates, et les sels neutres en pyrophosphates :

$$PhO^4NaH^2 = PhO^3Na + H^2O$$
$$2\,PhO^4Na^2H = Ph^2O^7Na^4 + H^2O.$$

L'analyse qualitative révèle la nature des éléments acides et basiques qui existent dans les cendres et l'analyse quantitative donne la proportion absolue de chacun d'eux ainsi que la quantité qui se trouve dans les parties soluble et insoluble. Elles ne permettent pas de décider exactement la façon dont ces bases et acides sont unis entre eux. On a bien proposé certaines règles basées sur des hypothèses plus ou moins plausibles, pour grouper entre eux ces éléments (1); mais ces règles sont arbitraires, et il est infiniment préférable et plus exact de donner simplement le poids de chacun d'eux, sans recourir à un essai de groupement qui n'est souvent qu'un trompe-l'œil et qui peut, avec les mêmes données analytiques, fournir, suivant la manière dont on conduira les calculs, des résultats complètement différents.

4. DOSAGE DES ÉLÉMENTS CONTENUS DANS LES CENDRES.

Les méthodes décrites pour l'analyse qualitative peuvent être suivies pour le dosage des éléments constitutifs des cendres; mais il faut insister sur la nécessité absolue de suivre exactement les règles indiquées et de s'assurer constamment de la précipitation complète des éléments dosés. Les précipités sont recueillis sur de petits filtres sans plis et lavés à l'acide, dont on connaît le poids moyen des cendres que l'on doit toujours défalquer du poids du composé trouvé. Le précipité détaché du filtre est incinéré dans un creuset, le filtre lui-même est brûlé à part, soit au-dessus du creuset, soit sur le couvercle, en évitant toute perte de substance.

A. Dosage de l'acide sulfurique.

Il n'existe pas de méthode volumétrique simple et précise pour le dosage de l'acide sulfurique, mais ce dernier s'effectue avec une grande exactitude au moyen de la pesée.

A cet effet on dissout les cendres ou bien l'on en prend la partie soluble dans

(1) Voir : Ritter, *Chimie pratique*, p. 291; Frésénius, *Analyse quantitative, eaux minérales*, p. 767.

un volume d'eau assez considérable acidulée par l'acide chlorhydrique et l'on précipite le liquide bouillant par du chlorure de baryum. Le sulfate de baryum se dépose rapidement dans le liquide étendu, ce qui permet de décanter la majeure partie du liquide. Le précipité recueilli sur filtre, lavé et desséché, est incinéré dans un creuset de platine taré; le résidu refroidi est humecté d'acide azotique pour oxyder le sulfure qui aurait pu se former, puis calciné à nouveau. On pèse après refroidissement; l'augmentation de poids du creuset diminuée du poids des cendres du filtre représente le poids du sulfate de baryum. Ce poids, multiplié par 0,4263, indique la quantité d'acide sulfurique hydraté, et par 0,34326 la quantité d'acide anhydre SO^3.

Il arrive quelquefois que le précipité se sépare dans un état de ténuité tel qu'il passe à travers les pores du filtre; l'expérience montre qu'il est préférable de recommencer l'opération sur une nouvelle quantité de liquide, plutôt que d'essayer de refiltrer le liquide laiteux.

B. Dosage de l'acide chlorhydrique.

1° *Procédé pondéral.* — La solution des cendres est acidulée par l'acide nitrique, puis additionnée d'azotate d'argent et abandonnée à l'abri de la lumière; le précipité se tasse rapidement et les lavages se font par décantation. Le précipité recueilli sur filtre est lavé, séché et calciné dans un creuset de porcelaine; le résidu du filtre est humecté d'acide azotique pour transformer l'argent réduit en nitrate, puis d'acide chlorhydrique pour régénérer le chlorure; il est ensuite desséché et fondu. Le poids du chlorure d'argent multiplié par 0,24728 donne le chlore contenu dans les cendres et par 0,25425 le poids d'acide chlorhydrique HCl correspondant.

2° *Procédé volumétrique.* — Le dosage du chlore par la méthode volumétrique se fait comme elle est décrite à propos de l'analyse des urines (p. 57). Si le résidu est alcalin on le traite par l'acide azotique dont on sature l'excès par le carbonate de calcium.

C. Dosage de l'acide phosphorique.

1° *Procédé pondéral.* — Les phosphates peuvent être dosés dans la totalité des cendres ou séparément dans la partie soluble et la partie insoluble. On dissout les cendres dans l'eau acidulée par l'acide azotique, on additionne d'un excès de molybdate ammonique et l'on abandonne pendant 24 heures à 70°. Le précipité jaune de phosphomolybdate d'ammonium, lavé par décantation avec de l'eau contenant 1/3 de réactif molybdique, est ensuite redissout dans l'ammoniaque, puis additionné de chlorure d'ammonium et de sulfate de magnésium. Le mélange est agité, puis abandonné pendant 12 heures à 40°. Le précipité de phosphate ammoniaco-magnésien est réuni sur filtre à l'aide du liquide de filtration, lavé avec de l'ammoniaque au 1/4, desséché et incinéré. Les cendres du filtre sont humectées avec de l'acide azotique et calcinées à nouveau pour régénérer le phosphate qui a été réduit. Le poids du résidu calciné, formé de pyrophosphate de magnésium, multiplié par 8,63964, représente l'acide phosphorique anhydre Ph^2O^5.

Le phosphate ammoniaco-magnésien n'étant pas complètement insoluble, on tient compte de cette faible solubilité en ajoutant au poids du sel 1 milligramme pour chaque 54 centimètres cubes d'eaux mères et de lavage.

On peut doser à part le phosphate de fer en le séparant des autres phosphates au moyen de l'acide acétique qui ne dissout que ces derniers; on recueille la partie insoluble sur filtre, on lave, sèche, calcine et pèse.

Si les cendres sont exemptes de fer, la précipitation préalable par le molybdate ammonique est inutile. On fait une solution acétique de ces cendres, on en précipite la chaux par l'oxalate d'ammonium; le liquide filtré réuni aux eaux de lavage est concentré à un petit volume, puis traité par l'ammoniaque en excès et le sulfate de magnésium; le phosphate ammoniaco-magnésien se précipite.

Un nouveau procédé de dosage pondéral de l'acide phosphorique en présence de la chaux, de la magnésie et du fer a été indiqué par M. F. Jean (1). On dissout les cendres dans l'acide nitrique et l'on précipite la solution par l'ammoniaque. On ajoute de l'acide citrique jusqu'à réaction acide et redissolution, puis de l'acétate d'urane, et l'on fait bouillir pendant un certain temps: il se précipite du phosphate d'urane qu'on lave à l'eau chaude. On sèche et l'on pèse après calcination. Le résidu de pyrophosphate d'uranyle multiplié par 0,1977 donne le poids de l'acide phosphorique.

2° *Procédé volumétrique.* — Le dosage volumétrique des phosphates par l'acétate d'urane (2) est directement applicable aux cendres qui sont exemptes de fer et par conséquent à la partie soluble dans l'eau pure. On dissout les cendres dans 20 ou 25 centimètres cubes d'eau acidulée par l'acide chlorhydrique, on neutralise par l'ammoniaque, on étend à 50 centimètres cubes, on ajoute 5 centimètre cubes de la liqueur acétique, puis on effectue le dosage comme il est décrit (p. 58).

Si les cendres sont ferrugineuses, leur solution chlorhydrique est additionnée d'un petit excès de chlorure ferrique et précipitée par l'ammoniaque. Le précipité rougeâtre renferme tout l'acide phosphorique et un excès de fer. On le traite dans une capsule par de l'acide acétique jusqu'à ce qu'une partie commence à se dissoudre et l'on chauffe à l'ébullition jusqu'à décoloration complète de la liqueur. Le précipité qui renferme tout l'acide phosphorique et le fer est lavé à l'eau, redissout dans l'acide chlorhydrique étendu, additionné d'un peu d'acide tartrique, puis d'ammoniaque et de sulfure d'ammonium jusqu'à coloration jaune et enfin chauffé doucement.

Le sulfure de fer est précipité complètement quand le mélange d'abord vert est devenu jaune pâle; on filtre, et on lave avec de l'eau contenant un peu de sulfure ammonique.

Les eaux de filtration qui contiennent tout l'acide phosphorique sont évaporées, additionnées de carbonate de sodium et le résidu est calciné. On redissout dans l'eau, on étend à 50 centimètres cubes, on ajoute 5 centimètres cubes de liqueur acétique, puis on titre l'acide phosphorique avec la solution uranique.

(1) F. Jean, *Comptes rendus*, 1874, t. LXXVIII, p. 1305.

(2) Dosage des urines, p. 59.

D. Dosage du fer.

Il existe plusieurs procédés de dosage du fer, les uns pondéraux, d'autres volumétriques (1); les premiers trop longs doivent céder la place aux seconds et parmi ceux-ci il est préférable de choisir le procédé Bruel (2) à l'hyposulfite de sodium au procédé basé sur l'emploi du permanganate. En effet, d'une part ce dernier réactif est très altérable, d'autre part il exige que le fer soit d'abord réduit au minimum d'oxydation; le procédé à l'hyposulfite agit sur le fer au maximum d'oxydation, de sorte que la liqueur titrée de fer type se conserve indéfiniment et peut toujours servir.

Procédé de Bruel à l'hyposulfite de sodium. — Principe : les sels ferriques jaune brun, en solution légèrement acidulée par l'acide chlorhydrique, sont transformés par l'hyposulfite de soude d'abord en hyposulfite de fer rouge brun, puis sont réduits à chaud à l'état de tétrathionate ferreux incolore S^4O^6Fe''. Quand dans un mélange de sel ferrique et de salicylate de soude coloré en violet et acidulé par un peu d'acide chlorhydrique, on verse de l'hyposulfite de soude en chauffant à 100°, la décoloration se produit au moment ou tout le sel ferrique est transformé en tétrathionate ferreux.

Haswell (1), qui a indiqué le principe de la réaction, conseille d'ajouter au mélange de sel ferrique et de salicylate quelques gouttes de sulfato de cuivre.

Solutions titrées. — 1° Solution ferrique. On dissout 1 gramme de fer pur dans 20 centimètres cubes d'acide chlorhydrique additionné de chlorate de potassium; on chasse l'excès de chlore par l'ébullition, on évapore à consistance sirupeuse au bain-marie, puis on étend au litre. 1 centimètre cube de la solution = 0gr,001 de fer.

2° Liqueur d'hyposulfite. Solution d'hyposulfite de sodium à 1 p. 100.

Manuel opératoire. — 1° Titrage de l'hyposulfite. Dans une fiole on introduit 10 centimètres cubes de solution ferrique, 40 centimètres cubes d'eau et 0gr,1 de sâlycilate de soude; on porte à l'ébullition et l'on verse l'hyposulfite jusqu'à décoloration; soit n le nombre de centimètres cubes d'hyposulfite nécessaire.

$$1 \text{ centimètre cube correspond à } \frac{0{,}001 \times 10}{n} \text{ de fer.}$$

2° Dosage du fer dans les cendres. On redissout les cendres (ou la partie insoluble des cendres) dans de l'acide chlorhydrique avec un peu de chlorate de potassium; on concentre en consistance sirupeuse au bain-marie pour chasser l'excès de chlore, on reprend par de l'eau et l'on soumet la solution à l'action de l'hyposulfite comme précédemment. Soit n' le nombre de centimètres cubes d'hyposulfite employé. La quantité de fer contenue dans les cendres est donnée par la formule :

$$p \text{ de fer} = \frac{0{,}001 \times 10}{n} \times n'.$$

(1) Voir : Hoppe-Seyler, *Analyse chimique*, trad. française, p. 339; et Mohr, *Analyse chimique*, trad. française, p. 174.

(2) Bruel, *Compt. rend. de l'Acad.*, 1883, t. XCVII, p. 954.

(3) Haswell, *Journ. de chim. et de pharm.*, 1882, 1er vol., p. 525.

E. Dosage du manganèse.

Le manganèse n'existe guère en quantité appréciable que dans les cendres du sang; aussi doit-on, pour le doser, opérer sur de grandes quantités de matière; le précipité de sulfure de manganèse, lavé à l'eau chargée de sulfure d'ammonium, est desséché et calciné avec le filtre dans un petit creuset de porcelaine. On saupoudre le résidu refroidi d'un peu de fleur de soufre, et l'on ferme le creuset avec un couvercle percé d'un trou laissant passer un tube à dégagement d'hydrogène sec et exempt d'air; on chauffe doucement et progressivement jusqu'au rouge blanc; on obtient ainsi du sulfure de manganèse pur, dont le poids, multiplié par 0,61581, donne la quantité correspondante d'oxyde MnO.

F. Dosage du calcium.

On dissout les cendres dans de l'acide chlorhydrique, on évapore en consistance sirupeuse au bain-marie et l'on ajoute un excès d'acétate de sodium qui substitue à l'acide minéral de l'acide acétique dans lequel l'oxalate de chaux est insoluble; on traite le liquide par de l'oxalate ammonique et l'on chauffe au bain-marie. On jette sur filtre le précipité d'oxalate de calcium, on le lave, on dessèche et l'on calcine. Après refroidissement, on humecte d'acide sulfurique ou mieux de sulfate d'ammonium concentré (Schrötter), on évapore et l'on calcine au rouge.

Le poids de sulfate de chaux obtenu, défalcation faite des cendres du filtre, multiplié par 0,41154, donne la quantité de chaux CaO correspondante, et par 0,29395 celle du calcium Ca.

G. Dosage du magnésium.

Le liquide dans lequel on a précipité la chaux est réuni aux eaux de lavage du précipité d'oxalate calcique et concentré, sursaturé par un excès d'ammoniaque et additionné de phosphate de soude, puis abandonné pendant 12 heures dans un endroit chaud. Le précipité de phosphate ammoniaco-magnésien est recueilli sur un petit filtre lavé à l'ammoniaque au quart, puis desséché et calciné en suivant les précautions indiquées (p. 61). Le poids du pyrophosphate multiplié par 0,21622 donne la quantité de magnésium Mg correspondante et par 0,36036 celle de la magnésie MgO.

H. Dosage du potassium et du sodium.

La solution aqueuse des cendres est traitée par le chlorure de baryum, puis par la baryte caustique jusqu'à réaction alcaline. Après séparation du précipité le liquide filtré est additionné d'ammoniaque et de carbonate ammonique puis filtré de nouveau. La solution est évaporée à siccité et calcinée légèrement pour chasser tous les sels ammoniacaux. On reprend par l'eau, on filtre une troisième fois s'il y a quelques flocons insolubles, on évapore à sec et l'on calcine légèrement. Le poids du résidu donne la somme des poids du chlorure de potassium et du chlorure de sodium. On dissout dans un peu d'eau, on ajoute du chlorure

de platine jusqu'à coloration en jaune du liquide et l'on abandonne pendant 24 heures. On recueille sur filtre le précipité cristallin de chloroplatinate de potassium, on lave à l'alcool, on sèche à 105° et l'on pèse. Le résultat obtenu multiplié par 0,30570 donne le chlorure de potassium correspondant. Le poids du chlorure de sodium s'obtient par simple différence.

On passe facilement aux métaux en multipliant les chlorures par 0,52467 pour le potassium et par 0,3939 pour le sodium.

On peut également doser le potassium et le sodium en fonction du poids total de leurs chlorures et de la quantité de chlore qu'ils renferment, en appliquant les formules de la page 62.

I. Dosage de l'acide carbonique.

La majeure partie des carbonates contenus dans les cendres des tissus organiques animaux, sinon la totalité (sauf pour le sérum du sang et les sérosités), provient de sels à acides organiques que la calcination a transformés en carbonates. D'autre part, certains sels acides, les phosphates, par exemple, déplacent plus ou moins complètement l'acide carbonique pendant l'incinération des matières; enfin les carbonates terreux sont transformés en partie en bases terreuses correspondantes. Il résulte de là que le dosage de l'acide carbonique dans les cendres ne présente pas en général de grand intérêt. Aussi nous contenterons-nous de donner le principe du dosage pondéral de l'acide, sans décrire les nombreux appareils qu'on peut utiliser dans son application (appareils de Wurtz, Frésénius et Will, Mohr, Geissler, Rose, Kipp, Schrötter, etc.). On fait réagir un acide fixe sur le carbonate dans un appareil disposé de façon à pouvoir être taré sans que l'acide réagisse sur le carbonate. Connaissant le poids du sel et la tare de l'appareil renfermant à la fois le carbonate et l'acide, on provoque la réaction; l'acide carbonique se dégage et se dessèche en passant sur du chlorure de calcium, sur de la ponce sulfurique ou dans de l'acide sulfurique concentré. La perte de poids de l'appareil représente celui de l'acide carbonique.

TABLE DES MATIÈRES.

CHAPITRE II.

ANALYSE DU SANG.

CHAPITRE III.

ANALYSE DES SÉROSITÉS.

CHAPITRE IV.

ANALYSE DES PRODUITS DE SÉCRÉTION.

§ I. — LAIT ET COLOSTRUM.

§ II. — ANALYSE DE LA SALIVE ET DES PRODUITS BUCCAUX.

§ III. — ANALYSE DU SUC GASTRIQUE.

§ IV. — ANALYSE DU SUC PANCRÉATIQUE.

§ V. — ANALYSE DE LA BILE.

§ VI. — SUC INTESTINAL ET CONTENU DE L'INTESTIN.

§ VII. — ANALYSE DE LA SUEUR.

§ VIII. — ANALYSE DE LA MATIÈRE SÉBACÉE.

§ IX. — ANALYSE DU PUS.

CHAPITRE V.

ANALYSE DES TISSUS ET ORGANES DE L'ÉCONOMIE.

§ I. — TISSU OSSEUX, SUBSTANCES DENTAIRES ET CONCRÉTIONS CALCAIRES.

§ II. — ANALYSE DU TISSU MUSCULAIRE.

§ III. — ANALYSE DU CERVEAU ET DES NERFS.

§ IV. — ANALYSE DES TISSUS ADIPEUX ET DES CORPS GRAS.

§ V. — ANALYSE DES ORGANES GLANDULAIRES : POUMONS, FOIE, PANCRÉAS, RATE, GLANDES SALIVAIRES, ETC.

CHAPITRE VI.

RECHERCHE ET DOSAGE DES ÉLÉMENTS INORGANIQUES CONTENUS DANS LES TISSUS ET LES HUMEURS.

TABLE ALPHABÉTIQUE.

A

B

L

M

T

U

V

FIGURES INTERCALÉES DANS LE TEXTE.

FIN.



PARIS. — IMP. C. MARPON ET E. FLAMMARION, RUE RACINE, 26.